
Aus der Gemeinschaftspraxis
Prof. Dr. med. Fehmann und Dr. med. Eidenmüller
Fachrichtung: Innere Medizin

**Untersuchung
der Plasmakonzentration von Diabetikern und
Stoffwechselgesunden
im Hinblick auf diabetogene Hormone
unter besonderer Berücksichtigung von Resistin**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin

Dem Fachbereich der Medizin der
Phillips-Universität Marburg
vorgelegt

von
Jens Michael Heyn
aus Wabern-Harle

Marburg 2004

Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin der Philipps-Universität
Marburg am

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof. Dr. Maisch

Referent: Prof. Dr. Kann

Korreferent:

Und ob ich schon wanderte im finsternen Tal,
fürchte ich kein Unglück, denn du bist bei
mir, dein Stecken und Stab trösten mich.
(Psalm 23,4)

Meinen Eltern
Inge und Hans-Joachim Heyn
und meiner Schwester
Kerstin Heyn
gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung

| | |
|--|----|
| 1.1. Resistin | 6 |
| 1.1.1 Sekretion und Regulation des Resistins im Tiermodell | 6 |
| 1.1.2 Sekretion und Regulation des Resistins bei Menschen | 8 |
| 1.1.3 Genetische Mutation des Resistings | 9 |
| 1.2 Leptin | 9 |
| 1.2.1 Lokalisation der Leptinproduktion | 9 |
| 1.2.2 Einfluss einzelner Hormone auf die Biosynthese | 10 |
| 1.2.3 Wirkung von Leptin und Interaktion mit Insulin | 11 |
| 1.2.4 Leptinrezeptoren | 13 |
| 1.2.4.1 Struktur und Lokalisation | 13 |
| 1.2.4.2 Kopplung an intrazelluläre Effektorsysteme | 15 |
| 1.3 Weitere Hormone im Zusammenhang mit Adipositas und Diabetes mellitus | 16 |
| 1.4 Fragestellung | 20 |

2. Material und Methoden

| | |
|-----------------------------------|----|
| 2.1 Probanden | 21 |
| 2.1.1 Einschlußkriterien | 21 |
| 2.1.2 Ausschlußkriterien | 21 |
| 2.1.3 Aufklärung und Einwilligung | 21 |
| 2.1.4 Studiengruppen | 22 |
| 2.2 Sammeln von Blutproben | 22 |
| 2.3 Analyseverfahren | 23 |
| 2.3.1 Resistin-EIA | 23 |
| 2.3.1.1 Benötigte Materialien | 23 |
| 2.3.1.2 Durchführung des EIA | 23 |
| 2.3.2 Leptin-ELISA | 25 |
| 2.3.2.1 Benötigte Materialien | 25 |
| 2.3.2.2 Durchführung des ELISA | 26 |
| 2.4 Berechnung des BMI | 28 |
| 2.5 Statistische Auswertung | 28 |

3. Ergebnisse

| | |
|---|----|
| 3.1 Untersuchung der Hormonkonzentration von stoffwechselgesunden Probanden | 30 |
| 3.1.1 Untersuchung einer möglichen Beziehung zwischen der Leptin-plasmakonzentration und dem BMI | 30 |
| 3.1.2 Untersuchung einer möglichen Beziehung zwischen der Resistin-plasmakonzentration und dem BMI | 31 |
| 3.1.3 Untersuchung einer möglichen Beziehung zwischen der Resistin-plasmakonzentration und dem Blutzuckernüchternwert | 31 |
| 3.1.4 Untersuchung einer möglichen Beziehung der Plasmakonzentration von Resistin und Leptin | 32 |

| | |
|---|-----------|
| 3.2 Untersuchung der Hormonkonzentration von Probanden mit Diabetes mellitus Typ 1 | 34 |
| 3.1.1 Untersuchung einer möglichen Beziehung zwischen der Leptin-plasmakonzentration und dem BMI | 34 |
| 3.1.2 Untersuchung einer möglichen Beziehung zwischen der Resistin-plasmakonzentration und dem BMI | 35 |
| 3.1.3 Untersuchung einer möglichen Beziehung zwischen der Resistin-plasmakonzentration und dem Blutzuckernüchternwert | 35 |
| 3.1.4 Untersuchung einer möglichen Beziehung der Plasmakonzentration von Resistin und Leptin | 36 |
| 3.3 Untersuchung der Hormonkonzentration von Probanden mit Diabetes mellitus Typ 2 | 38 |
| 3.1.1 Untersuchung einer möglichen Beziehung zwischen der Leptin-plasmakonzentration und dem BMI | 38 |
| 3.1.2 Untersuchung einer möglichen Beziehung zwischen der Resistin-plasmakonzentration und dem BMI | 39 |
| 3.1.3 Untersuchung einer möglichen Beziehung zwischen der Resistin-plasmakonzentration und dem Blutzuckernüchternwert | 39 |
| 3.1.4 Untersuchung einer möglichen Beziehung der Plasmakonzentration von Resistin und Leptin | 40 |
| 3.4 Untersuchung einer möglichen Beziehung zwischen der Leptin-plasmakonzentration und dem Nüchternwert des Blutzuckers | 42 |
| 3.5 Untersuchung möglicher Einflüsse durch Insulinsensitizer auf die Plasmakonzentrationen der untersuchten Parameter | 42 |
| 3.6 Unterschiede der Plasmakonzentration von Probanden mit diabetischer Stoffwechsellage im Vergleich zu stoffwechselgesunden Probanden | 44 |
| 3.7 Zusammenfassung der gefundenen Ergebnisse | 44 |
| 4. Diskussion | 47 |
| 5. Zusammenfassung | 61 |
| 6. Literaturverzeichnis | 63 |
| 7. T-Tabelle | 82 |
| 8. Abbildungsverzeichnis | 83 |
| 9. Tabellenverzeichnis | 84 |
| 10. Probandeninformation | 85 |
| 11. Einwilligungserklärung | 87 |
| 12. Verzeichnis verwendeter Abkürzungen | 88 |
| 13. Lebenslauf | 91 |
| 14. Verzeichnis der Hochschullehrer | 93 |
| 15. Danksagung | 94 |

1 Einleitung

1.1 Resistin

1.1.1 Sekretion und Regulation des Resistins im Tiermodell

Adipozyten sezernieren mehrere Proteine. Eines dieser Eiweiße, Resistin, wurde 2001 entdeckt. Hierbei handelt es sich um ein 12,5 kDa schweres cysteinreiches Protein, dessen Plasmakonzentration bei genetischen und diätinduzierten Formen der Adipositas deutlich erhöht ist. Interessanterweise wird Resistin exklusiv von Adipozyten exprimiert und sezerniert (Steppan et al. 2001). Resistin besteht bei Mäusen aus 114 Aminosäuren und zirkuliert als Homodimer zweier Peptide, die über eine Disulfidbrücke verbunden sind, im Blut (Banerjee et al. 2001). Während der Adipozytendifferenzierung wird die Expression des Resistin-Gens induziert. Die Gabe eines Anti-Resistin-antikörpers führt bei adipösen Mäusen zu einer Verbesserung der Insulinsensitivität (Steppan et al. 2001).

Fasten, über einen Zeitraum von 48 Stunden, führt zu einer Reduktion der Resistin-mRNA bei Mäusen. Dieser Effekt wird allerdings durch die nachfolgende Nahrungsaufnahme wieder antagonisiert (Steppan et al. 2001).

Die Inkubation von 3T3-L1 Zellen, die häufig als Model der insulinvermittelten Glucoseaufnahme dienen, über 24 Stunden mit 25 mmol/l D-Glucose führt zu einem 50% höheren Anstieg der Resistin-mRNA im Vergleich zu einer 3T3-L1 Zellpopulation, die über 24 Stunden in einem Medium mit nur 5 mmol/l D-Glucose inkubiert wurde (Shojima et al. 2002).

Insulin führt ebenfalls zu einem Anstieg der Resistinexpression im weißen Fettgewebe (Way et al. 2001, Kim et al. 2001, Zhong et al. 2002). Eine Studie, die an 3T3-L1 Zellen durchgeführt wurde, zeigt hingegen, dass die 24 stündige Inkubation mit Insulin zu einer Reduktion der Expression der Resistin-mRNA um 37% führt (Shojima et al. 2002).

Um den Einfluss von Dexamethason auf die Resistin-mRNA Expression zu untersuchen, wurden 3T3-L1 Zellen mit Dexamethason (1µmol/l) inkubiert. Dies

fürte zu einer stimulierenden Wirkung auf die Regulation der Resistin-mRNA. Die Applikation von 10 mg/kg Dexamethason in vitro führte zu einem signifikanten Anstieg der Resistin-mRNA (um 70%) und des Seruminsulins, als Zeichen einer gesteigerten Insulinresistenz (Shojima et al. 2002).

Eine verminderte Expression des Resistin-Gens zeigte sich in den Adipozyten insulinresistenter Ratten. Durch erhöhte Spiegel von FFA (free fatty acid), die durch Fructosediet oder Fasten induziert sein können, kam es ebenfalls zur verminderten Expression des Resistin-Gens (Juan et al. 2001, Steppan et al. 2001).

TNF- α hat einen starken inhibitorischen Effekt auf die Expression von Resistin in 3T3-L1 Zellen. Eine Inkubation der 3T3-L1 Zellen in einem Medium, das 100 ng/ml TNF- α enthält, führt zur Reduktion der Resistin-mRNA um 77% (Shojima et al. 2002).

Von Wachstumshormon (GH) ist bekannt, dass es die Insulinantwort des Gewebes auf Insulingabe antagonisiert. So haben Akromegalie-Patienten eine erhöhte Prävalenz im Bezug auf Glucoseintoleranz oder Diabetes mellitus (Daughaday et al. 1992). Eine Therapie von Ratten, die ein GH-Defizit aufweisen, mit Wachstumshormon führt zu einer starken Induktion der Resistin-Genexpression im weißen Fettgewebe (Delhanty et al. 2002).

Shojima et al. beschrieben 2002 in ihrer Arbeit den Einfluss von Epinephrin und Wachstumshormon auf die Resistin-Genexpression als leicht hemmend. Ab einer Konzentration von 1 μ mol/L Epinephrin und 200 ng/ml Wachstumshormon sind diese Effekte statistisch signifikant.

Endothelin-1 wirkt ebenfalls hemmend auf die Sekretion von Resistin. Dabei ist die Hemmung jedoch konzentrationsabhängig und kann bei 3T3-L1 Zellen bis zu 59% (100 nM) betragen (Zhong et al. 2002).

Resistin seinerseits hat wiederum einen hemmenden Einfluss auf die Differenzierung der Adipozyten (Kim et al. 2001).

| Hemmende Wirkung auf die Expression von Resistin | Steigernde Wirkung auf die Expression von Resistin |
|--|--|
| Wachstumshormon | Wachstumshormon |
| Epinephrin | Glucose |
| TNF-a | Dexamethason |
| FFA | Insulin |
| Endothelin-1 | |
| Insulin | |

Tabelle 1.1 Übersicht über den Einfluss verschiedener Hormone auf die Expression von Resistin anhand der aktuellen Studienlage

1.1.2 Sekretion und Regulation des Resistins im menschlichen Organismus

Die Studienlage zur Regulation der Resistin-Genexpression beim Menschen ist zur Zeit noch sehr lückenhaft. Nagaev et al. (2001) konnten nur bei einigen wenigen Probanden (Diabetikern oder adipösen Menschen) eine sehr geringe Expression von Resistin im Fettgewebe nachweisen. Die überwiegende Mehrzahl der Probanden zeigte keine Resistin-Expression im Fettgewebe oder in der Muskulatur. Eine verstärkte Expression des Resistins konnte hingegen in menschlichen mononuklearen Blutzellen gefunden werden.

Durch eine neuere Studie von McTernan et al. (2002) wurde der Nachweis einer Resistin-mRNA Expression im Fettgewebe des menschlichen Körpers erbracht.

Zwei weitere Studien zeigten übereinstimmend, das Insulin ein positiver Regulator der Resistin-Genexpression ist (Way et al. 2001, Kim et al. 2001). Durch Aktivierung von β -Adrenorezeptoren hingegen wird die Expression von Resistin supprimiert (Fasshauer et al. 2001).

TNF-a ist ein Zytokin, dass von Makrophagen und Adipozyten produziert wird (Hotamisligil et al. 1993). Untersuchungen an ausdifferenzierten 3T3-L1 Zellen zeigten, dass die Expression des Resistin-Gens und die Sekretion des Resistins durch TNF-a inhibiert wird. Hierbei handelt es sich um einen komplett

reversiblen Effekt. Weitere Hormone wie Angiotensin II und GH haben keinen signifikanten Einfluss auf die Resistin-Genexpression und Sekretion (Fasshauer et al. 2001).

1.1.3 Genetische Mutationen des Resistingens

Das menschliche Gen für Resistin ist auf Chromosom 19 lokalisiert (Steppan et al. 2001). Während der Genanalyse des Resistin-Gens konnte eine Punktmutation (G1326C) nachgewiesen werden. Allerdings ließen sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Häufigkeit dieser Punktmutation bei Diabetikern oder adipösen Probanden im Vergleich zu Stoffwechselgesunden nachweisen (Sentinelli et al. 2002).

Weitere Analysen des Resistin-Gens bei 237 Probanden erbrachten acht unterschiedliche Varianten des Gens, die allerdings weder eine veränderte Aminosäuresequenz aufwiesen, noch mit Diabetes mellitus Typ 2 assoziiert sind (Wang et al. 2002).

1.2 Leptin

1.2.1 Lokalisation der Leptinproduktion

Eine rezessive Mutation des ob- (obese) oder des db-Gens (diabetes) bei Mäusen resultiert in Fettleibigkeit und Diabetes. Mäuse mit dieser Mutation weisen in zahlreichen Parametern Parallelen zu menschlichen Diabetikern auf (Coleman et al. 1978, Friedman et al. 1992).

Coleman et al. konnten 1978 zeigen, dass das ob-Gen für ein zirkulierendes Protein und das db-Gen für den dazugehörigen Rezeptor kodiert. Durch Klonen und genaue Charakterisierung des ob-Gens zeigte sich, dass dieses Gen für ein Hormon kodiert, das hauptsächlich im Fettgewebe, aber auch im Magenepithel und in der Plazenta, exprimiert wird (Zhang et al. 1994, Bado et al. 1998, Masuzaki et al. 1997).

Das Protein wurde Leptin (leptos [grie.]: dünn) genannt und zirkuliert im menschlichen Plasma und im Plasma von Mäusen mit einem Molekulargewicht

von 16kDA (Halaas et al. 1995). Eine Variante des Leptins, das im Magen von Ratten isoliert werden konnte, hat ein Molekulargewicht von 19kDA (Stephens et al. 1995).

1.2.2 Einfluss einzelner Hormone auf die Biosynthese

Studien an isolierten tierischen und menschlichen Adipocyten zeigten, dass Insulin die mRNA-Expression und Sekretion von Leptin in vitro steigert (Wabitsch et al. 1996, Hardie et al. 1996). Hyperinsulinämie führt daher langfristig zu einem Anstieg der Leptinkonzentration (Kolaczynski et al. 1996). Eine Therapie des Diabetes mellitus Typ 1 oder Typ 2 mit Insulin führt ebenfalls zu einem deutlichen Anstieg der Serumleptinkonzentration (Nagasaka et al. 1998).

Adipositas ist häufig mit einem erhöhten Cortisolumsatz assoziiert. Glucocorticoide wiederum modulieren die Nahrungsaufnahme und das Körpergewicht. Studien zeigen, dass die menschlichen Cortisol- und Leptinkonzentrationen invers korreliert sind (Licinio et al. 1997, Korbonits et al. 1997). Nüchterne Ratten mit reduzierter Leptinkonzentration zeigen eine erhöhte Kortikoid- und ACTH-Konzentration. Nach Gabe von Leptin fallen die erhöhten Konzentrationen wieder ab (Ahima et al. 1996).

Glucocorticoide haben ihrerseits einen stimulierenden Effekt auf Synthese und Sekretion von Leptin (Slieker et al. 1996). Patienten, die am Cushing-Syndrom erkrankt sind, haben eine stark erhöhte Serumleptinkonzentration, die allerdings nach Entfernung des neuroendokrinen Tumors und dem damit verbundenen Rückgang der Cortisolkonzentration, ebenfalls wieder abfällt (Masuzaki et al. 1997, Widjaja et al. 1998).

Für die Sexualhormone wird ebenfalls eine Beeinflussung der Regulation des Leptins beschrieben. Im Falle des Testosterons konnte eine Reduktion der Leptinproduktion nachgewiesen werden (Wabitsch et al. 1997, De Pergola et al. 2000).

Die nachfolgende Abbildung 1.1 veranschaulicht die doch sehr komplexen Interaktionen der einzelnen Hormone mit Leptin.

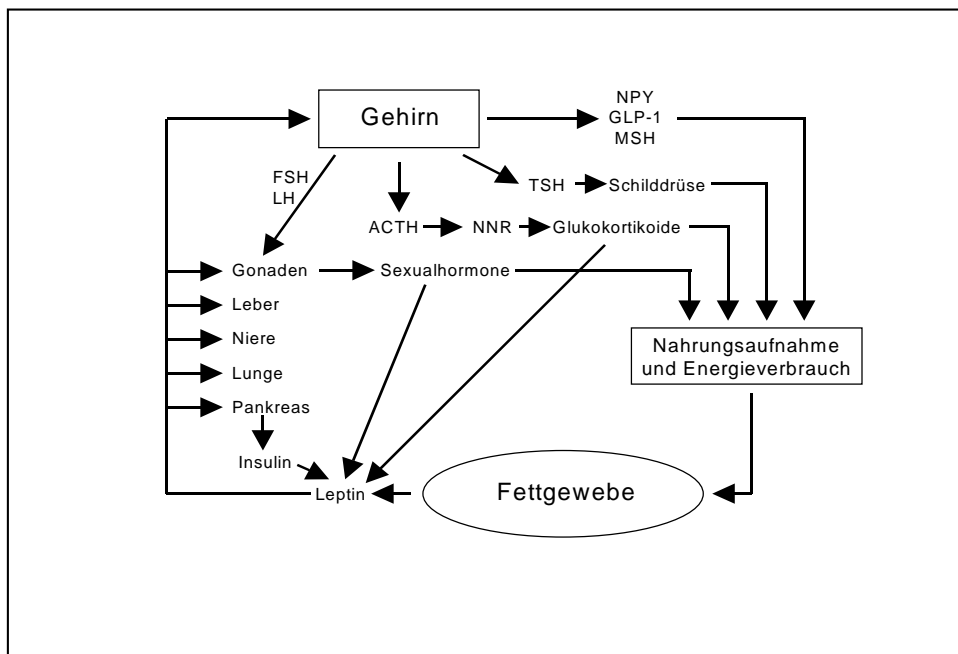


Abbildung 1.1 Schematische Darstellung der Interaktionen von Leptin mit endokrinen Hormonen. Leptin wird in den Fettzellen sezerniert, wobei die Menge der Leptinproduktion abhängig ist von der aktuellen Nahrungsaufnahme und der Höhe der Plasmaspiegel von Glukokortikoiden, Sexualhormonen und Insulin. Im Gehirn und hier hauptsächlich im Hypothalamus wird die Nahrungsaufnahme über NPY, GLP-1 und MSH reguliert. Möglich ist ebenfalls eine Modulation der ACTH- und TSH-Sekretion und somit ein indirekter Einfluss auf die Nahrungsaufnahme. Schließlich findet sich der Leptinrezeptor auch in verschiedenen peripheren Geweben wie Gonaden, Leber, Niere Lunge und Pankreas.

1.2.3 Wirkung von Leptin und Interaktion mit Insulin

Leptin ist ein Signalprotein, dass den Körper über die Körperfettmasse informiert. Dabei zeigt dieses Hormon eine hemmende Wirkung auf die Nahrungsaufnahme und eine steigernde auf die Energieabgabe des Körpers.

Eine Leptintherapie hat eine gesteigerte Insulinsensitivität bei gesunden Ratten zur Folge, was anhand der gesteigerten, insulinvermittelte Verwertung der Glucose im peripheren Gewebe sichtbar wird (Cusin et al. 1998, Shi et al. 1998, Wang et al. 1999). Die direkte Inhibierung der Insulinsekretion durch Leptin konnten Emilsson et al. nachweisen. Seinerseits steigert Insulin die Leptinsekretion der Adipozyten (Rentsch et al. 1996). Die Beeinflussung der Insulinfreisetzung durch Leptin erfolgt auf verschiedenen Ebenen (Tabelle 1.2).

| Einfluss von Leptin auf die Insulinsekretion | Referenz |
|---|---------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> • Reduktion der intrazellulären Ca^{2+}-Ionen Konzentration und Aktivierung der ATP-sensitiven K^{+}-Kanäle | Fehmann 1997, Harvey 1997 |
| <ul style="list-style-type: none"> • Spezifische Hemmung der Phospholipase-C vermittelten Insulinsekretion | Chen 1997 |
| <ul style="list-style-type: none"> • Reduktion der Proteinkinase C, ein Ca^{2+}-Ionen abhängiger Mediator, in der zweiten Phase der Phospholipase C Signalkette | Chen 1997, Ookuma 1998 |
| <ul style="list-style-type: none"> • Hemmung der Insulingentranskription in pankreatischen β-Zellen, mit einer Reduktion der Präproinsulin mRNA um 50% | Pallett 1997 |
| <ul style="list-style-type: none"> • Aktivierung der Phosphodiesterase, die zu cAMP-Suppression und zur Blockade der GLP-1 stimulierten Insulinsekretion führt | Zhao 1998, Poitout 1998 |
| <ul style="list-style-type: none"> • Hemmung der Insulin-Genexpression | Seufert 1999 |

Tabelle 1.2 Leptin beeinträchtigt die Insulinproduktion auf verschiedenen Stufen

Zusätzlich zeigen in vivo und in vitro Studien eine enge Verknüpfung zwischen Leptin und Insulinsignalwegen an verschiedenen Stellen. Dazu gehören Insulinrezeptorsubstrat, Phosphatidylinositol-3-Kinase und mitogen-aktivierte Proteinkinase (Kim et al. 2000, Szanto et al. 2000). Ferner zeigt sich eine Korrelation der Leptinkonzentration mit der Insulinkonzentration und mit dem Grad der Insulinsensitivität (Segal et al. 1996, Cohen et al. 1996).

Streptozotocin zerstört selektiv die β -Zellen des Pankreas und führt zu Insulinmangel, Insulinresistenz (Dall'Aglia et al. 1985) und zu niedrigen Leptinplasmakonzentrationen (Havel et al. 1998). Bei Ratten, die mit Streptozotocin behandelt wurden, konnten die Effekte von Leptin auf die Insulinsensitivität untersucht werden. Eine chronische periphere Gabe von Leptin führt zu einer Normalisierung der Hyperglykämie, unabhängig von den Effekten auf die Nahrungsaufnahme. Zusätzlich zeigen die mit Leptin behandelten Tiere eine Besserung der Insulinsensitivität, wohingegen unbehandelte Tiere weiterhin das Bild einer Insulinresistenz aufweisen (Chinookoswong et al. 1999).

Leptinrezeptoren existieren unter anderem auf menschlichen Hepatozyten. Innerhalb der Hepatozyten können die Stoffwechselwege von Insulin durch das

Leptin antagonisiert werden. Leptin führt zu einer Minderung der durch Insulin vermittelten Tyrosinphosphorylierung des IRS-1 (Cohen 1996) und der Glukokinase. Gleichzeitig wird durch Insulin die PEP-Karboxykinase gesteigert. Diese Effekte haben wiederum eine gesteigerte Glukoneogenese und eine reduzierte Glycogenolyse zur Folge (Rossetti et al. 1997, Liu et al. 1998).

1.2.4 Leptinrezeptoren

1.2.4.1 Struktur und Lokalisation

Der Leptinrezeptor wurde im Plexus choroideus von Mäusen als Mitglied der Zytokinfamilie identifiziert und bindet Leptin in nanomolarer Affinität (Tartaglia et al. 1995). Sein extrazellulärer Anteil ist sehr eng verwandt mit der gp130 Siganltransduktions-Komponente des Interleukin-6 Rezeptors (Taga et al. 1989), dem G-CSF-Rezeptor (Granulozyten koloniestimulierenden Faktor; Larsen et al. 1990) und dem LIF-Rezeptor (Leukämie inhibierenden Faktor; Gearing et al. 1991). Die Aminosäuresequenz des menschlichen Ob-Rezeptors zeigt eine Übereinstimmung von 78% mit der Aminosäuresequenz des Ob-Rezeptors von Mäusen. Interessanterweise kodiert die menschliche DNA, im Vergleich zu der der Mäuse, für einen Ob-Rezeptor mit einer wesentlich längeren intrazellulären Domäne (Tartaglia et al. 1995).

Der Transport des Leptins aus der Peripherie in das ZNS erfolgt über einen spezifischen Sättigungsmechanismus (Banks et al. 1996, Caro et al. 1996), der durch die kurze Isoform des Leptinrezeptors, die besonders häufig im Plexus choroideus zu finden ist, vermittelt wird (Tartaglia et al. 1995, Schwartz et al. 1996). Abschnittsweises Klonen des db-Gens zeigte, dass dieses Gen für fünf alternative Splicevarianten kodiert, nämlich Ob-Ra, Ob-Rb, Ob-Rc, Ob-Rd und Ob-Re (Tartaglia et al. 1995, Lee et al. 1996).

Ob-Rb besitzt eine lange cytoplasmatische Struktur, die einige für die Signaltransduktion wichtige Strukturen enthält. Eine Mutation im Ob-Rezeptorgen resultiert in einem adipösen Phänotyp, identisch dem der ob-Mäuse (Li et al. 1998).

Der Ob-Rezeptor wird normalerweise verstärkt in hypothalamischen Neuronen, T-Zellen und vaskulären Endothelzellen, exprimiert (Lord et al. 1998, Lee et al. 1996, Ghilardi et al. 1996, Sierra-Honigmann et al. 1998). Außerdem gelang es den Ob-Rezeptor in der Leber und im Fettgewebe nachzuweisen (Cohen et al. 1996).

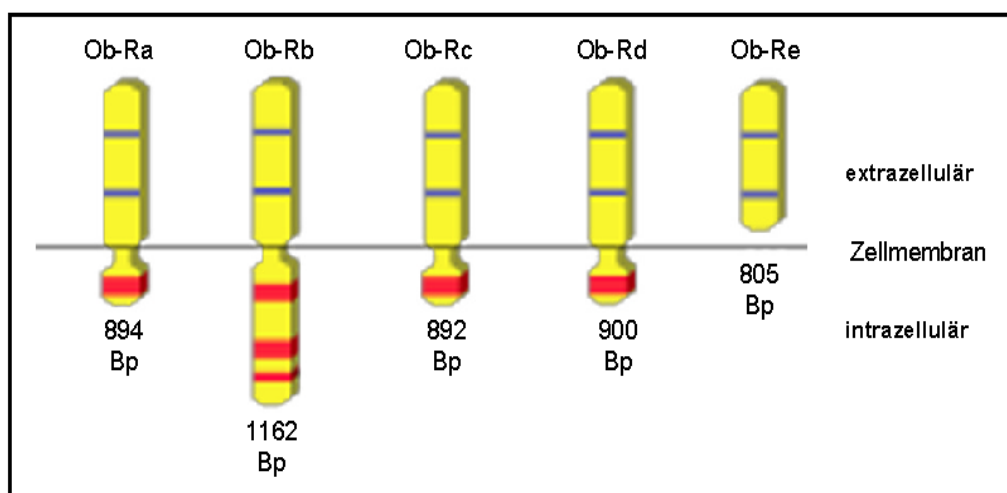


Abbildung 1.2 Schematische Darstellung der verschiedenen Isoformen des Leptinrezeptors. Allen Rezeptoren gemeinsam ist die extrazelluläre Domäne, wohingegen sich die jeweilige intrazelluläre Domäne deutlich unterscheidet. Ob-Re weist lediglich eine extrazelluläre Domäne auf, die übrigen Leptinrezeptoren besitzen auch eine intrazelluläre Domäne. Für jeden Rezeptor wurde die Anzahl der kodierenden Basenpaare angegeben.

Durch in situ Hybridisierung konnten im ZNS der Nucleus arcuatus, der Nucleus hypothalamicus, der Nucleus paraventricularis und der ventromedialen hypothalamischen Nucleus als Orte der Ob-Rb Expression ausgemacht werden. Jeder einzelne dieser Kerne spielt eine wichtige Rolle für die Regulation des Körpergewichts (Mercer et al. 1996, Fei et al. 1997).

1.2.4.2 Kopplung an intrazelluläre Effektorsysteme

Die lange Form des Leptinrezeptors, Ob-R (Chen et al. 1996), ist strukturell verwandt mit der Klasse 1 der Zytokinsuperfamilie (Tartaglia et al. 1995). Dieser Rezeptortyp ist assoziiert mit Mitgliedern der Familie der Janus Kinase (JAK), einer zytoplasmatischen Tyrosinkinase (Ihle et al. 1995).

Die Bindung eines Liganden an den Rezeptor führt zu einer Aktivierung der JAK-Kinase und hat die Phosphorylierung der zytoplasmatischen Zielproteine zur Folge. Zu diesen Zielproteinen gehören auch die STAT-Proteine (signal transducers and activators of transcription), die durch die JAK-Kinase phosphoryliert werden. Eine Aktivierung der STAT-Proteine wiederum induziert eine Dimerisierung und Translokation in den Nucleus, was letztlich zu einer Induktion der Expression leptinsensitiver Gene führt (Darnell et al. 1994, Ihle et al. 1996). Dieser Vorgang wird jedoch durch SOCS3 (Suppressor of Cytokine Signalling-3) moduliert, das heißt SOCS3 inhibiert die Aktivierung des Ob-Rb Rezeptors (Carvalho et al. 2001).

Ghilardi et al. (1996) zeigten, dass die Bindung eines Liganden an den Ob-Rezeptor zur Aktivierung von STAT-1, STAT-3 und STAT-6 führt. Drei Jahre später lieferten Morton et al. (1999) den Nachweis, dass das Leptinsignal durch verschiedene STATs vermittelt wird, abhängig von Zielgewebe und zellulärem System. Unterstützt werden diese Ergebnisse durch die Tatsache, dass Leptin STAT-3 lediglich im Hypothalamus (Vaisse et al. 1996), STAT-1 im Fettgewebe und STAT-5 (Siegrist-Kaiser et al. 1997) im Intestinum (Morton et al. 1998) aktiviert, eine Aktivierung von STAT-6 konnte bisher nicht gezeigt werden.

Im Gegensatz dazu kann die kurze Form des Ob-Rezeptors, die häufig bei db/db-Mäusen vorkommt, keine der sechs verschiedenen STAT-Proteine aktivieren.

Durch Sequenzieren der Intron/Exon Grenzen eines genetischen Klon des Ob-Rezeptors ergibt sich, dass die kurze und die lange Isoform des Rezeptors durch unterschiedliches Splicen innerhalb des letzten Introns des Ob-Rezeptorgens zustande kommt. Innerhalb des Ob-Rezeptorgens der db/db-

Mäuse entsteht durch eine Punktmutation von Guanin zu Thymin ein neues Stop-Codon (TGA) (Ghilardi et al. 1996).

Die mRNA der kurzen Isoform des Ob-Rezeptors wird ubiquitär exprimiert. Die höchsten Spiegel können in Lymphknoten, Uterus und Lunge gemessen werden. Im Gegensatz zur kurzen Isoform beträgt der Anteil der mRNA der langen Isoform des Ob-Rezeptors in diesen Geweben nur 3-5%, im Hypothalamus dagegen wiederum 40% (Lee et al. 1996, Ghilardi et al. 1996).

1.2.5 Weitere Hormone im Zusammenhang mit Adipositas und Diabetes mellitus

Die hypothalamischen Kerne exprimieren Neuropeptide oder Neurotransmitter, die die Nahrungsaufnahme oder das Körpergewicht regulieren. Leptin scheint mit vielen dieser Neuropeptide zu interagieren.

So wird Neuropeptid Y, das als stärkster bekannter Appetitanreger nach intrathekalen Gabe gilt, durch Leptin inhibiert (Friedman et al. 1997).

Alpha-MSH (Melanozyten stimulierendes Hormon) und MSH-Agonisten führen ebenfalls zu einer Reduktion der Nahrungsaufnahme (Satoh et al. 1998). Die Verabreichung von Cholecystokinin führt zur Potenzierung des anorektischen Effekts des Leptins (Matson et al. 1997).

CART (cocaine- and amphetamine-regulated transcript) verursacht auch eine Verminderung der Nahrungsaufnahme. Wohingegen die experimentelle Gabe von anti-CART-Antikörpern die Nahrungsaufnahme erhöht. Eine erhöhte mRNA-CART-Konzentration findet sich bei ob/ob-Mäusen (Kristensen et al. 1998).

Ein hemmender Effekt bei der Nahrungsaufnahme ist für Insulin (Woods et al. 1996), Bombesin (Ohki-Hamazaki et al. 1997) und CRH (Gardner et al. 1998) beschrieben worden.

Orexin-a, Orexin-b (Sakurai et al. 1998), MCH (Melanin concentrating hormone) (Qu et al. 1996) und Noradrenalin steigern die Nahrungsaufnahme. Eine

Zusammenfassung der Hormone und ihren Einfluss auf die Nahrungsaufnahme sind in Tabelle 1.3 enthalten.

| Steigerung der Nahrungsaufnahme | Senkung der Nahrungsaufnahme |
|---------------------------------|------------------------------|
| Neuropeptid Y | CART |
| MCH | Cholecystokinin |
| Galanin | CRH |
| Orexin a und b | a-MSH |
| Peptide YY | Insulin |
| Noradrenalin | GLP-1 |
| Ghrelin | Bombesin |
| Agouti-related Protein | Urocortin |
| | Serotonin |

Tabelle 1.3 Neurotransmitter und Neuropeptide, die die Nahrungsaufnahme modulieren. Der Einfluss von Leptin auf diese Faktoren ist noch nicht abschließende geklärt worden.

Neben dem Insulinrezeptor nutzen eine ganze Reihe von weiteren Rezeptoren, wie der GH-Rezeptor und Rezeptoren mit sieben Transmembrandomänen, das Insulinrezeptorsubstratsystem zur intrazellulären Signaltransduktion (Myers et al. 1996). Hormone wie TNF- α , GH, Angiotensin II und IGF-1 interagieren mit diesen Rezeptoren und könnten daher die Insulinsignalkette modifizieren oder inhibieren (Yenush et al. 1997). Eine in vitro Studie erbrachte den Nachweis, dass TNF- α Insulinresistenz induziert und in hoher Konzentration in den Fettzellen von Tieren mit Insulinresistenz vorhanden ist (Hotamisligil et al. 2000).

Im Bezug auf den Menschen ist die Studienlage kontrovers. Während Kern et al. (2001) eine Korrelation zwischen Insulinresistenz und TNF- α Sekretion nachweisen konnten, konnten andere klinische Studien dies nicht (Koistinen et al. 2000, Ofei et al. 1996, Bluher et al. 2001).

Ebenfalls kontrovers ist die Studienlage im Bezug auf GH und IGF-1. Während Hussain et al. (1994) nachwiesen, dass die Therapie mit GH bei Patienten mit GH-Defizit eine Insulinresistenz induziert und die Gabe von IGF-1 zu einer Verbesserung der Insulinsensitivität führt, konnten Bluher et al. (2001) keine signifikanten Unterschiede in der Plasmakonzentration dieser Hormone bei insulinresistenten, adipösen Probanden im Vergleich zu stoffwechselgesunden Probanden finden.

Ghrelin ist im Magengewebe von Ratten identifiziert worden und gilt als Stimulus der GH-Sekretion (Kojima et al. 1999). Darüber hinaus hat Ghrelin einen stimulierenden Einfluss auf die Nahrungsaufnahme (Tschop et al. 2000), es steigt kurz vor der Nahrungsaufnahme stark an, um kurz nach der Mahlzeit wieder abzufallen (Cummings et al. 2001). Ein diätisch induzierter Gewichtsverlust bei Menschen hat einen Anstieg der Ghrelinkonzentration im Plasma zur Folge (Cummings et al. 2002). Die Serumghrelinkonzentration ist sowohl bei adipösen, als auch bei schlanken Menschen, negativ korreliert mit Insulin, Leptin und dem BMI. Besonders niedrige Ghrelinkonzentrationen finden sich bei Menschen mit starker Insulinresistenz (Cappiello et al. 2002).

In Tierversuchen ist für Ghrelin ein gewichtsfördernder Effekt und die Steigerung des Fettmetabolismus beschrieben worden (Tschop et al. 2000). Die Nahrungsaufnahme kann durch Blockade von Ghrelin im Gehirn reduziert werden (Nakazato et al. 2001).

Adiponectin (bzw. Acrp30) ist ein weiteres Protein, das exklusiv im Fettgewebe synthetisiert und in die Blutbahn abgegeben wird. Dieses Protein besteht aus 247 Aminosäuren und hat ein Molekulargewicht von 28 kDa (Scherer et al. 1995). Die Adiponectinsekretion wird hormonell beeinflusst. So hemmen Insulin (Scherer et al. 1995, Fasshauer et al. 2002), TNF- α und Dexamethason die Genexpression. T3, GH und Angiotensin II haben keinen Einfluss auf das Adiponectin (Fasshauer et al. 2002).

Die Adiponectinplasmakonzentration wird negativ durch das Gewicht reguliert. Sowohl Diabetiker, als auch Nichtdiabetiker weisen einen signifikanten Anstieg der Adiponectinkonzentration im Serum nach einer Reduktion des Gewichts,

beziehungsweise des BMI um 10% auf. Darüber hinaus haben Typ 2 Diabetiker eine signifikant verminderte Plasmakonzentration von Adiponectin (Hotta et al. 2000). Dies wurde von Weyer et al. (2001) in einer zweiten Studie an Probanden mit Diabetes mellitus bestätigt. Beide sahen übereinstimmend eine stärkere Verknüpfung des Adiponectins mit dem Grad der Insulinresistenz und der Hyperinsulinämie, als mit dem Grad der Adipositas. Patienten mit einer generalisierten Lipodystrophie und Hypoadiponectinämie weisen ebenfalls eine extreme Insulinresistenz auf (Haque et al. 2002).

Das menschliche Agouti-Protein ist auf Chromosom 20 lokalisiert. Seine Nukleotidsequenz weist eine strukturelle Übereinstimmung von 85% mit der von Mäusen auf. Das Protein selbst besteht aus 132 Aminosäuren und wird vornehmlich im Fettgewebe und in den Hoden exprimiert (Kwon et al. 1995). Agouti steigert wie Insulin die Synthese von freien Fettsäuren in menschlichen Adipozyten (Claycombe et al. 2000).

Durch den Nachweis der Expression von Agouti im Pankreas scheint das Protein dort als potenter Stimulator der Insulinsekretion zu wirken (Xue et al. 1999). Neben dem zentralen Effekt, die Nahrungsaufnahme zu steigern (diesen Effekt zeigt auch agouti-related Protein), reguliert Agouti ebenfalls den Adipozytenmetabolismus (Claycombe et al. 2000). Versuche an genetisch veränderten Mäusen, die Agouti-Protein ektopisch exprimieren, zeigen, dass allein die ektopische Expression von Agouti-Protein für den typischen gelben Pelz, Fettleibigkeit und eine Form von Typ 2 Diabetes mellitus bei Mäusen verantwortlich ist (Klebig et al. 1995).

1.3 Fragestellung

Alle erwähnten Proteine stehen im Zusammenhang mit Adipositas und Diabetes mellitus. Die verfügbaren Daten stammen jedoch überwiegend aus Tierexperimenten oder wurden mit Hilfe von Zellkulturen gewonnen. Darüber hinaus wird zur Zeit über die Ergebnisse zum Teil kontrovers diskutiert. In dieser Arbeit wurde das Hauptaugenmerk auf die Proteine Leptin und Resistin gelenkt. Bislang liegen keine Daten über die Resistinplasmakonzentration vor. Daher ergeben sich für diese Arbeit folgende Fragen:

Lässt sich Resistin im menschlichen Blutplasma nachweisen und messen?

Lässt sich ein Zusammenhang ableiten aus der Höhe der Plasmakonzentrationen der Proteine Resistin oder Leptin mit dem Vorhandensein eines Diabetes mellitus Typ 2 oder einer Adipositas?

Gibt es eine Verbindung zwischen ausgewählten Blutparametern wie Cholesterin, Triglyceriden oder Blutzucker mit der Höhe der Plasmakonzentrationen von Resistin und Leptin?

Zeigen sich Unterschiede in der Höhe der Hormonkonzentrationen zwischen Männern und Frauen?

Zeigt sich ein Zusammenhang zwischen dem Alter und der Resistinplasmakonzentration?

Unterscheiden sich die Hormonkonzentrationen der drei Studiengruppen signifikant?

Besteht eine Korrelation der Proteine Resistin und Leptin untereinander?

2 Material und Methoden

2.1 Probanden

2.1.1 Einschlusskriterien

Teilnahmeberechtigt waren alle Probanden, die nicht eines der Kriterien aufwiesen, die zum Ausschluss aus der Studie geführt hätten. Wichtig für die Durchführung der Studie war, dass sowohl Probanden mit Diabetes mellitus (Typ 1 oder Typ 2), als auch stoffwechselgesunde Probanden bereit waren, teilzunehmen.

2.1.2 Ausschlusskriterien

Eine Infektion mit HIV, Hepatitis C oder eine andere akute Infektionskrankheit führte zum Ausschluss aus der Studie. Ebenso wurden Probanden aus der Studie ausgeschlossen, die zum Zeitpunkt der Blutentnahme nicht mehr nüchtern waren. Schließlich wurden auch mögliche Probanden nicht berücksichtigt, die sich erst nach 11.00 Uhr im Labor der Gemeinschaftspraxis Prof. Dr. med. Fehmann und Dr. med. Eidenmüller einfanden.

2.1.3 Aufklärung und Einwilligung

Die Rekrutierung und Aufklärung möglicher Probanden erfolgte vor einer Routineblutentnahme in der Gemeinschaftspraxis PD Dr. med. Fehmann und Dr. med. Eidenmüller. Vor der Blutentnahme wurden die Voraussetzungen zur Teilnahme an der Studie überprüft und die Probanden über die Ziele der Studie aufgeklärt. Zusätzlich wurde jedem Probanden ein Merkblatt bezüglich der Studie ausgehändigt und das schriftliche Einverständnis eingeholt. Die Kopie von Merkblatt und Einwilligungsbogen befindet sich im Anhang dieser Arbeit.

Da die Teilnahme an der Studie freiwillig erfolgte, war es den einzelnen Probanden jederzeit möglich, ohne Angabe von Gründen aus der Studie auszuscheiden, ohne dass ihnen dadurch Nachteile in der weiteren medizinischen Betreuung entstanden.

2.1.4 Studiengruppen

Die einzelnen Probanden wurden entsprechend ihrer Grunderkrankung einer der drei Studiengruppen zugeteilt:

- Stoffwechselgesunde Probanden
- Probanden mit Diabetes mellitus Typ 1
- Probanden mit Diabetes mellitus Typ 2

Um den Einfluss von Insulinsensitizern auf die untersuchten Parameter zu klären, wurden Probanden, die an Diabetes mellitus Typ 2 leiden und seit mindestens sechs Monaten mit Insulinsensitizern behandelt worden sind, mit den ebenfalls an Diabetes mellitus Typ 2 leidenden Probanden ohne Insulinsensitizertherapie verglichen. Die rekrutierten Probanden wurden mit Pharmaka aus der Gruppe der Thiazolidinedione (Rosiglitazon oder Pioglitazon) therapiert.

Da beide Medikamente nur bei Typ 2 Diabetikern, die unter einer Insulinresistenz leiden, Anwendung finden, kann ein Vergleich dieser Probanden lediglich mit der Gruppe der übrigen Typ 2 Diabetiker erfolgen.

2.2 Sammeln von Blutproben

Die möglichen Probanden fanden sich während der Zeit von 8.00 bis 11.00 Uhr in der Gemeinschaftspraxis PD Dr. Fehmann und Dr. Eidenmüller ein. Zunächst wurden die möglichen Probanden über die vorliegende Studie aufgeklärt und anschließend wurde ihre Zustimmung eingeholt. Nachdem geklärt war, ob alle Vorraussetzungen zur Teilnahme an der Studie erfüllt sind, erfolgte im Rahmen der Routineblutentnahme die Blutentnahme nach vorheriger Desinfektion mittels venöser Punktion in der Ellenbeuge. Zum Sammeln des Blutes wurde eine 2,7 ml fasende EDTA-Monovette (Sarstedt) verwendet, die 1,6mg EDTA pro ml beinhaltet.

Das entnommene Blut wurde nach der Entnahme bei 1600 U/min 15 Minuten lang zentrifugiert. Der dabei entstandene Überstand wurde in ein separates

Blutröhrchen abpipettiert und bei -25°C bis zur weiteren Analyse tiefgefroren.

Schließlich wurden noch die Größe und das Gewicht der einzelnen Probanden ermittelt.

2.3 Analyseverfahren

2.3.1 Resistin-EIA

2.3.1.1 Benötigte Materialien

Zur Durchführung des Resistin-EIAs (Enzym Immunoassay) der Firma Phoenix Pharmaceuticals, Inc. wurden die folgenden Materialien verwendet:

- 20 mal Assaypufferkonzentrat (50ml)
- 950ml destilliertes Wasser
- Mikrotiterplatte (mit 96 Wells)
- Antiserum (Hasen anti Peptid IgG)
- Standardpeptid ($1\mu\text{g}$)
- Biotinyliertes Peptid
- $30\mu\text{g}$ SA-HRP (Streptovadin-horseradisch peroxidase)
- Substratlösung (12ml)
- 2N HCl (15ml)
- Elisa-Reader
- Versiegelungsfolie

2.3.1.2 Durchführung des EIA

Die Durchführung der Resistinbestimmung mittels des EIA-Kits der Firma Phoenix Pharmaceuticals, Inc. ist ohne Peptidextraktion möglich. Daher konnten die zuvor tiefgefrorenen Plasmaproben in einem Wasserbad langsam auf Raumtemperatur erwärmt und anschließend direkt analysiert werden.

Im ersten Schritt wurde der konzentrierte Assaypuffer mit 950ml destilliertem Wasser verdünnt. Anschließend wurde das Standardpeptid mit einem Milliliter destilliertem Wasser dehydriert und durch Vortexen gut durchmischt. Die so erhaltene Lösung hatte eine Resistinkonzentration von 1000ng/ml. Durch weiteres Verdünnen dieser Lösung mit 500µl, bzw. 900µl Assaypuffer, erhielt man eine Standardverdünnungsreihe mit den Konzentrationen 500ng/ml, 50ng/ml, 5ng/ml, 0,5ng/ml und 0,05ng/ml.

Nach Rehydration des Antiserums und des biotinylierten Peptids mit jeweils 5ml Assaypuffer und anschließendem Mischen wurde die Mikrotiterplatte entsprechend der Abbildung 2.1 mit jeweils 50 µl gefüllt.

| | | | | | | | | | | | |
|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| BI | S4 | S8 | P2 | P6 | P10 | P14 | P18 | P22 | P26 | P30 | P34 |
| BI | S4 | S8 | P2 | P6 | P10 | P14 | P18 | P22 | P26 | P30 | P34 |
| S1 | S5 | Q1 | P3 | P7 | P11 | P15 | P19 | P23 | P27 | P31 | P35 |
| S1 | S5 | Q1 | P3 | P7 | P11 | P15 | P19 | P23 | P27 | P31 | P35 |
| S2 | S6 | Q2 | P4 | P8 | P12 | P16 | P20 | P24 | P28 | P32 | P36 |
| S2 | S6 | Q2 | P4 | P8 | P12 | P16 | P20 | P24 | P28 | P32 | P36 |
| S3 | S7 | P1 | P5 | P9 | P13 | P17 | P21 | P25 | P29 | P33 | P37 |
| S3 | S7 | P1 | P5 | P9 | P13 | P17 | P21 | P25 | P29 | P33 | P37 |

Abbildung 2.1 Darstellung der Füllung der Mikrotiterplatten (BI = Blank, S1-S8 = Standardlösung 1-8, Q1-Q2 = Qualitätskontrolle, P1-P37 Probenmaterial mit fortlaufender Nummer)

Zusätzlich gab man zu jedem Well, ausgenommen der Blankwells, jeweils 25µl Antiserum und 25µl biotinyliertes Peptid hinzu. Danach wurde die Mikrotiterplatte mit einer Versiegelungsfolie verschlossen und es schloss sich eine Inkubation von zwei Stunden unter Raumtemperatur und moderatem Schütteln, bei 500 rpm, auf einem Mikrotiterplatten-Schüttler an.

Während dieser Inkubationszeit wurde SA-HRP bei 1000 rpm für 15 Sekunden zentrifugiert und 12µl dieser Substanz in 12ml Assaypuffer gelöst und durch Vortexen gut vermischt.

Nach dem Ende der Inkubationszeit wurde die Versiegelungsfolie und der Inhalt der einzelnen Wells entfernt. Die jetzt leeren Wells wurden nachfolgend in insgesamt sechs Waschgängen mit jeweils 300µl Assaypuffer gespült. Anschließend pipettierte man jeweils 100µl der verdünnten SA-HRP-Lösung in jedes Well, um danach erneut für ein Stunde unter moderatem Schütteln und bei Raumtemperatur zu inkubieren.

Schließlich wurde der Inhalt der Wells nach einer Stunde wieder geleert und es schlossen sich erneut sechs Waschzyklen, wie bereits oben beschrieben, an. Danach wurde den einzelnen Wells jeweils 100µl Substratlösung zugefügt und anschließend erneut für eine Stunde, unter moderatem Schütteln, inkubiert.

Um schließlich die Reaktion zu stoppen, gab man, nach dieser letzten Inkubation, jeweils 100µl 2N HCl zu jedem Well. Abschließend wurde die Absorption der einzelnen Lösungen, die sich jetzt in den Wells befanden, photometrisch bei 450nm bestimmt, um so die entsprechende Proteinkonzentration der jeweiligen Probe zu ermitteln. Die Berechnung der Proteinkonzentration erfolgte nach einer Doppelbestimmung jeder einzelnen Probe.

Die untere Nachweisgrenze für Resistin liegt bei diesem EIA bei 0,5 ng/ml. Zur Bestimmung des intra-assay Variationskoeffizienten ($VK < 10\%$) erfolgte die Zehnfachbestimmung einer zu analysierenden Probe des mittleren Messbereichs.

2.3.2 Leptin-ELISA

2.3.2.1 Benötigte Materialien

Zur Bestimmung der Plasmakonzentration des Leptins wurde in dieser Arbeit ein Human Leptin Elisa Kit der Firma Linco Research, Inc. verwendet. Zur Durchführung dieses Elisa waren folgende Materialien nötig:

- Mikrotiterplatte
- Versiegelungsfolie
- TBS Waschpuffer Konzentrat 10X (30ml)
- 270ml destilliertes Wasser
- Leptin Standards (100 ng/ml, 50 ng/ml, 20 ng/ml, 10 ng/ml, 5 ng/ml, 2 ng/ml, 1 ng/ml, 0,5ng/ml)
- Qualitätskontrollen (1 und 2)
- Assay Puffer (20ml)
- Leptinantikörper (11ml)
- Enzymlösung (11ml)
- Substratverdünnung (11ml)
- Substrat pNPP (5mg Tablette)
- Stopplösung (3N NaOH 6ml)
- Elisa-Reader

2.3.2.2 Durchführung des ELISA

Bevor die eigentliche Durchführung des Leptin-ELISA begann, wurden sowohl die Plasmaproben, als auch die entsprechenden Reagenzien, im Wasserbad langsam auf Raumtemperatur erwärmt.

Danach wurde der mitgelieferte konzentrierte TBS-Waschpuffer mit 270ml destilliertem Wasser verdünnt. Anschließend wurden die einzelnen Wells der Mikrotiterplatte mit jeweils 300µl des verdünnten TBS-Waschpuffers gefüllt und für fünf Minuten bei Raumtemperatur inkubiert.

Nach Entfernung des TBS-Waschpuffers erfolgte die erneute Füllung dieser Wells mit 50µl Assaypuffer. Zusätzlich wurden entsprechend der Abbildung 2.1 50µl Standardlösung, Qualitätskontrolle oder Probenmaterial zugegeben. Die Mikrotiterplatte wurde anschließend mittels einer Folie versiegelt und bei 4°C über Nacht inkubiert.

Am nächsten Morgen wurde der Inhalt der Wells entfernt und es folgten drei Waschgänge der Wells mit jeweils 300µl TBS-Puffer. Anschließend wurden 100µl Antikörper zu jedem Well gegeben und unter moderatem Schütteln (500rpm) für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert.

Nach dieser Inkubation wurden die Antikörper erneut entfernt. Im nächsten Schritt wurden 100µl Enzymlösung in jedes Well pipettiert und erneut für 30 Minuten, wie oben beschrieben, inkubiert.

Während dieser Inkubation erfolgte die Herstellung der Substratlösung. Hierfür wurde eine mitgelieferte Substratablette in Substratverdünner unter gründlichem Mischen gelöst.

Die in den Wells enthaltene Enzymlösung wurde nach 30 Minuten wieder entfernt und es folgten erneut fünf Waschgänge mit jeweils 300µl TBS-Puffer. Schließlich wurde jeweils 100µl Substratlösung in jedes Well pipettiert.

15 Minuten später begann die Messung der Absorption in den einzelnen Wells bei 405nm. Dies erfolgte so lange, bis in den beiden Wells mit der 100 ng/ml Standardlösung eine Absorption zwischen 1,7 bis 1,9 Einheiten erreicht wurde. In der Regel war dies nach etwa 20 bis 30 Minuten der Fall. Abschließend erfolgte der Stopp der Enzymreaktion mit 3N NaOH und es schloss sich eine letzte Messung der entsprechenden Absorptionen in den einzelnen Wells an. Aus den so gemessenen Absorptionen und der daraus gewonnen Standardkurve konnten die Leptinkonzentrationen der einzelnen Proben bestimmen werden.

Die untere Nachweisgrenze für Leptin liegt bei diesem ELISA bei 0,5 ng/ml. Zur Bestimmung des intra-assay Variationskoeffizienten ($VK < 10\%$) erfolgte die Zehnfachbestimmung einer zu analysierenden Probe des mittleren Messbereichs.

2.4 Berechnung des BMI

Die Größe und das Gewicht der Probanden wurden direkt gemessen. Anhand der Formel $BMI = \frac{Körpergröße[m]}{(Körpergewicht)^2[kg^2]}$ erfolgte die mathematische Berechnung des Body-Mass-Index.

2.5 Statistische Auswertung

Die Protokollierung, Datenverwaltung, Berechnung und die deskriptive Statistik erfolgte auf Grundlage der Computer-Software Microsoft-Word 2000 und Microsoft- Excel 97.

Die dargestellten Daten wurden, soweit nicht anders erwähnt als arithmetische Mittelwerte mit Standardabweichung dargestellt.

Zur Analyse geschlechtsspezifischer Unterschiede wurde der t-Test für unabhängige Stichproben durchgeführt. Für die Analyse von Unterschieden zwischen den einzelnen Gruppen wurde ebenfalls der t-Test angewandt. Da die Stichprobenverteilung schief und die Zellenhäufigkeit hinreichend groß ist, darf eine Verletzung der Normalverteilung vernachlässigt werden (Bortz et al. 1993, Lindman et al. 1974).

Die Wahrscheinlichkeit eines Fehlers erster Art von $p < 0,05$ wurde als statistisch signifikant angesehen. Da jeweils mehrere Parameter auf ihre Signifikanz hin untersucht wurden, ist es nicht zulässig, jeweils nur von einem Signifikanzniveau (von $p < 0,05$) auszugehen. Vielmehr muss in einem solchen Fall das multiple Testen berücksichtigt werden. Das heißt, dass nach Sachs (1997) die ermittelten p-Werte der fünf zu untersuchenden Parameter (Resistin, Leptin, Cholesterin, Triglyceride und Blutzuckerspiegel) jeweils mit 0,05, $1/2 \cdot 0,05$, $1/3 \cdot 0,05$, $1/4 \cdot 0,05$, bzw. $1/5 \cdot 0,05$ verglichen werden müssen, beginnend mit dem kleinsten ermittelten p-Wert und endend mit dem größten (Sachs et al. 1997).

Außerdem wurde eine Korrelationsanalyse zwischen verschiedenen Daten durchgeführt. Dabei wurde jeweils der Maßkorrelationskoeffizient nach Bravais und Pearson bestimmt. Zur Prüfung ob eine Korrelation nachgewiesen werden

kann, dient ebenfalls die von Student eingeführte t-Verteilung. Die für diese Prüfung notwendigen $t_{(\text{Tab})}$ sind im Anhang in der t-Tabelle aufgeführt.

Die Prüfung erfolgt wie folgt:

1. Berechnung:
$$t_{\text{Vers}} = \frac{|r|}{\sqrt{1-r^2}} \cdot \sqrt{n-2}$$

wobei r der Maßkorrelationskoeffizient

und n die Anzahl der Wertepaare darstellt

2. Ablesen des Wertes $t_{(\text{Tab})}$ (FG;a) in der t-Tabelle,

wobei a dem Signifikanzniveau

und $\text{FG}=n-2$ dem Freiheitsgrad entspricht.

3. Vergleich von $t_{(\text{Vers})}$ und $t_{(\text{Tab})}$

wenn $t_{(\text{Vers})} < t_{(\text{Tab})}$ gilt H_0

wenn $t_{(\text{Vers})} = t_{(\text{Tab})}$ gilt ebenfalls H_0

wenn $t_{(\text{Vers})} > t_{(\text{Tab})}$ gilt H_1

Das heißt, eine Korrelation darf nur dann angenommen werden, wenn der errechnete t-Wert größer ist als der in der t-Tabelle abgelesene t-Wert. Nur in diesem Fall besteht eine Korrelation, da sich r signifikant von null unterscheidet (Köhler et al. 1995).

3 Ergebnisse

3.1 Untersuchung der Hormonkonzentration von stoffwechselgesunden Probanden

3.1.1 Untersuchung einer möglichen Beziehung zwischen der Leptinplasmakonzentration und dem BMI

Das Durchschnittsalter der 76 stoffwechselgesunden Probanden betrug $53,7 \pm 17,0$ Jahre, bei einem durchschnittlichen BMI von $26,3 \pm 5,3$ kg/m².

Die Leptinkonzentration im Blutplasma der stoffwechselgesunden Probanden lag durchschnittlich bei $19,8 \pm 19,5$ ng/ml, wobei sich die Leptinkonzentration der männlichen Probanden ($10,2 \pm 12,2$ ng/ml) signifikant $p < 0,001$ von der weiblichen unterschieden hat ($27,4 \pm 21,3$ ng/ml).

Die Korrelationsanalyse der Leptinkonzentration mit dem BMI erbrachte eine positive Korrelation von $r = 0,65$ (Abbildung 3.1). Da $t_{(Vers)} = 4,36 > t_{(Tab)} = 1,992$ besteht eine Korrelation zwischen beiden Parametern, weil r sich signifikant von null unterscheidet.

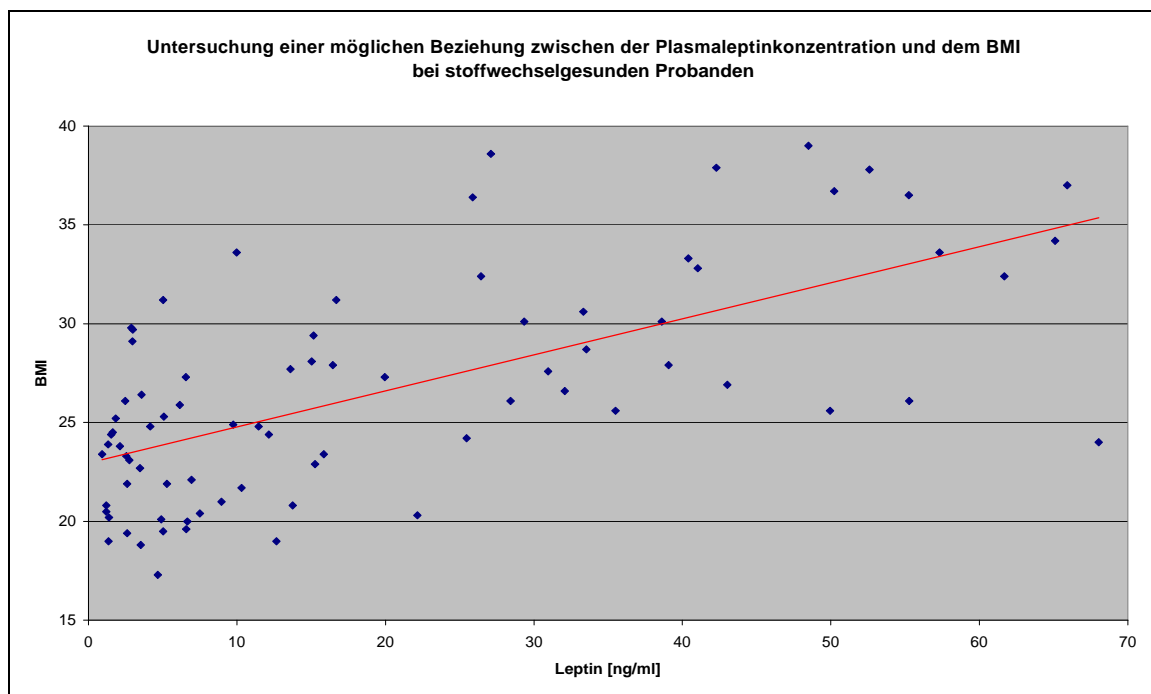


Abbildung 3.1 Darstellung der Beziehung zwischen der Plasmaleptinkonzentration und dem BMI

3.1.2 Untersuchung einer möglichen Beziehung zwischen der Resistinplasmakonzentration und dem BMI

Für die durchschnittliche Resistinkonzentration im Blutplasma wurde ein Wert von $38,8 \pm 7,9$ ng/ml bei stoffwechselgesunden Probanden ermittelt. Zwischen beiden Geschlechtern lies sich kein statistisch signifikanter Unterschied der Resistinplasmakonzentration nachweisen ($p=0,23$). Während die Plasmakonzentration für Resistin bei männlichen Probanden durchschnittlich bei $37,8 \pm 6,1$ ng/ml lag, lag sie bei den weiblichen Probandinnen bei $39,5 \pm 9,2$ ng/ml (Tabelle 3.1).

Die Korrelationsanalyse der Beziehung zwischen Resistinplasmakonzentration und BMI ergab $r=-0,22$ (Abbildung 3.2). Da aber $t_{(Vers)}=1,94$ kleiner ist als $t_{(Tab)}=1,992$ ergibt sich keine Korrelation.

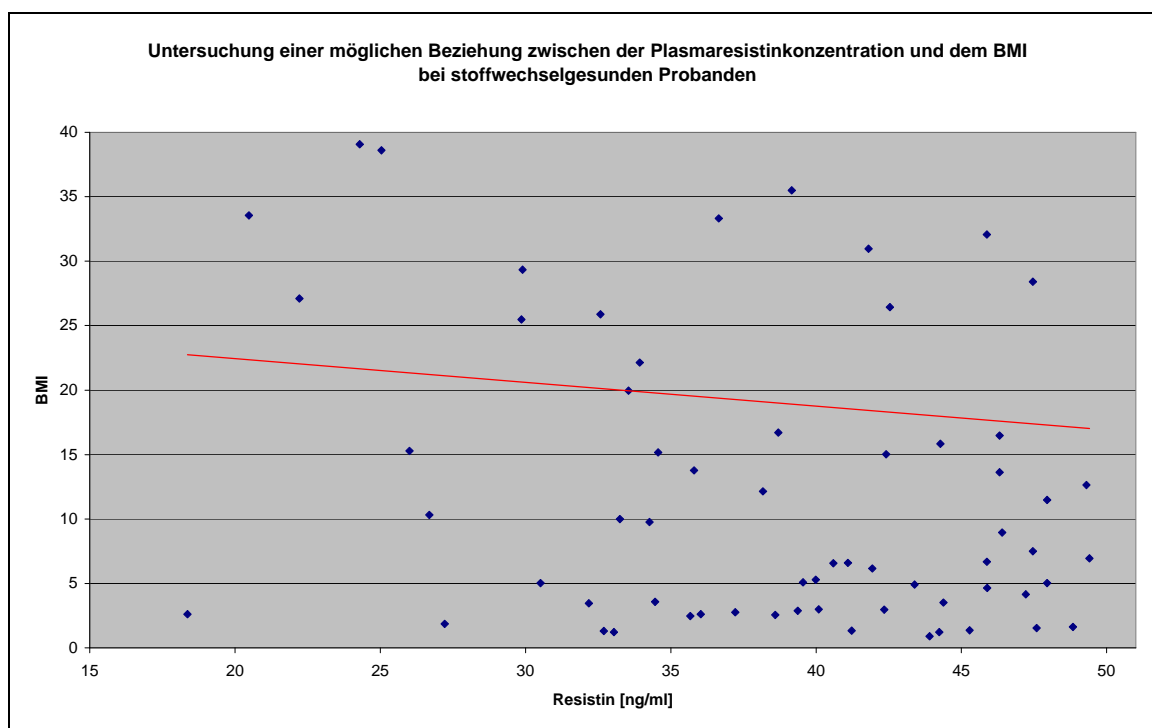


Abbildung 3.2 Darstellung der Beziehung zwischen der Plasmaresistinkonzentration und dem BMI

3.1.3 Untersuchung einer möglichen Beziehung zwischen der Resistinplasmakonzentration und dem Blutzuckernüchternwert

Der Blutzucker im Serum der nüchternen Probanden lag durchschnittlich bei $92,3 \pm 16,5$ mg/dl. Während die männlichen Probanden durchschnittlich einen

Blutzucker von $92,6 \pm 15,1$ mg/dl hatten, hatten die weiblichen Probandinnen einen Blutzucker von $91,6 \pm 18,1$ mg/dl, wobei sich keine statistische Signifikanz zeigte ($p=0,25$).

Die Korrelationsanalyse der gewonnenen Daten für die Resistinkonzentration und den Nüchternwert des Blutzuckers erbrachte ein r von $-0,01$. Zusätzlich war $t_{(Vers)}=0,08$ kleiner als $t_{(Tab)}=1,992$ und somit ergibt sich keine Korrelation zwischen diesen Parametern (Abbildung 3.3).

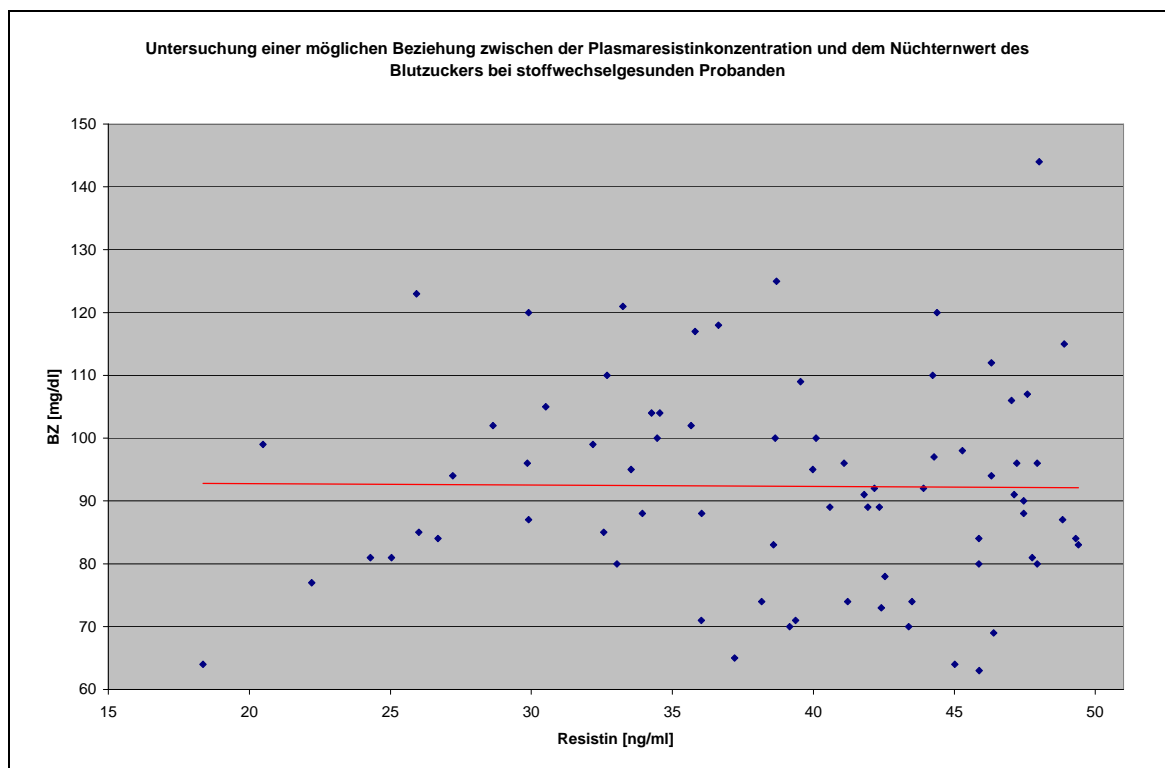


Abbildung 3.3 Darstellung der Beziehung zwischen der Plasmaresistinkonzentration und dem Nüchternwert des Blutzuckers

3.1.4 Untersuchung einer möglichen Beziehung der Plasmakonzentration von Resistin und Leptin

Die Korrelation der Plasmakonzentration von Leptin und Resistin ergaben einen Maßkorrelationskoeffizienten von $r=-0,08$ (Abbildung 3.4). Die Prüfung dieses Maßkorrelationskoeffizienten ergab keinen Anhalt für eine Korrelation ($t_{(Vers)}=0,68 < t_{(Tab)}=1,992$).

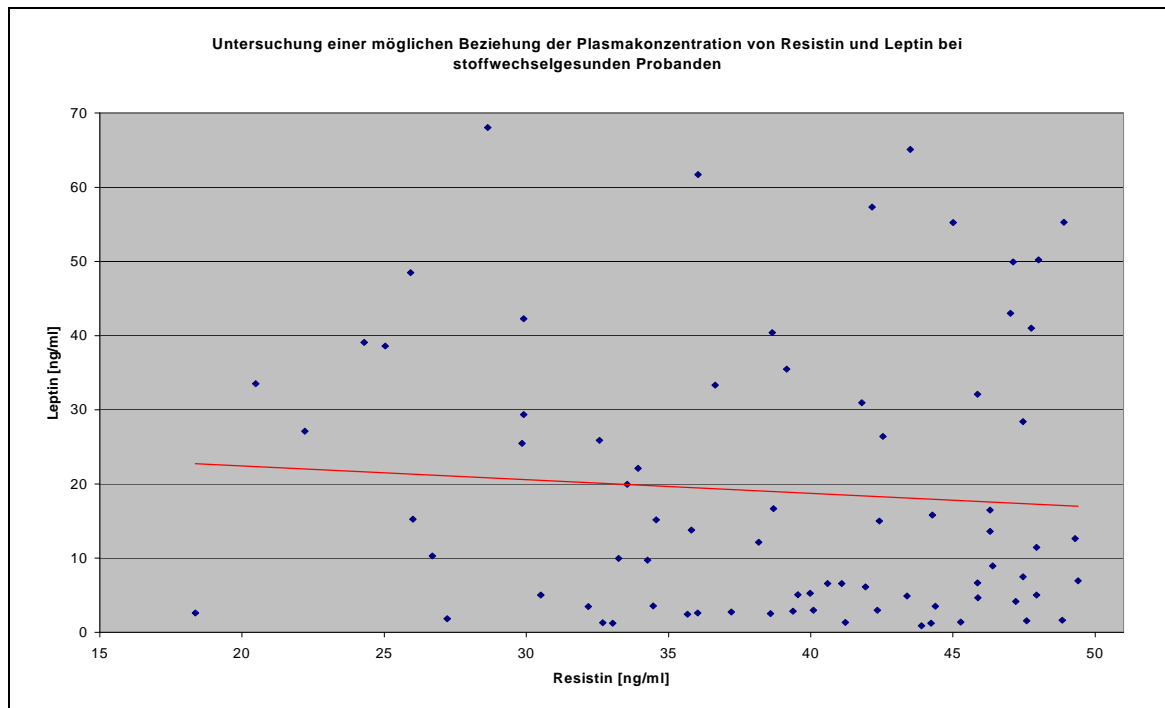


Abbildung 3.4 Darstellung der Beziehung der Plasmakonzentration von Resistin und Leptin

Die nachfolgende Tabelle 3.1 fasst die aus der Analyse der Blutproben gewonnenen Daten für die stoffwechselgesunden Probanden noch einmal zusammen. Dabei werden neben den Durchschnittswerten aller Probanden noch einmal getrennt die ermittelten Werte für männliche und weibliche Probanden angegeben.

| | Stoffwechselgesunde Probanden n=76 | Weibliche Probanden n=39 | Männliche Probanden n=37 |
|----------------------|---------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Alter [Jahre] | 53,7+/-16,9 | 55,2+/-19,3 | 52,2+/-13,7 |
| Größe [m] | 1,7+/-0,1 | 1,6+/-0,1 | 1,8+/-0,1 |
| BMI | 26,3+/-5,3 | 26,4+/-6,2 | 26,7+/-4,6 |
| Blutzucker [mg/dl] | 92,3+/-16,5 | 91,6+/-18,2 | 92,6+/-15,1 |
| Cholesterin [mg/dl] | 210,1+/-44,8 | 212,0+/-41,7 | 207,7+/-49,4 |
| Triglyceride [mg/dl] | 168,4+/-117,7 | 178,0+/-146,6 | 155,7+/-61,4 |
| Resistin [ng/ml] | 38,8+/-7,9 | 39,5+/-9,2 | 37,7+/-6,1 |
| Leptin [ng/ml] | 19,8+/-19,5 | 27,4+/-21,3 | 10,2+/-12,2 |

Tabelle 3.1 Übersicht über die ermittelten Parameter bei stoffwechselgesunden Probanden

3.2 Untersuchung der Hormonkonzentrationen von Probanden mit Diabetes mellitus Typ 1

3.2.1 Untersuchung einer möglichen Beziehung zwischen der Leptinplasmakonzentration und dem BMI

In einer zweiten Gruppe bestehend aus 43 an Diabetes mellitus Typ 1 erkrankten Probanden betrug das Durchschnittsalter $43,0 \pm 15,0$ Jahre bei einem durchschnittlichen BMI von $25,6 \pm 5,0$ kg/m².

Die Plasmakonzentration des Leptins der Probanden mit Diabetes mellitus Typ 1 zeigte einen durchschnittlichen Wert von $12,9 \pm 18,3$ ng/ml. Auch in der Gruppe der Typ 1 Diabetiker zeigten sich signifikante Unterschiede ($p < 0,001$) in der Höhe der Leptinplasmakonzentration von männlichen ($4,5 \pm 7,8$ ng/ml) und weiblichen Probanden ($20,4 \pm 21,7$ ng/ml).

Eine Korrelationsanalyse der Leptinkonzentration mit dem BMI ergab einen Maßkorrelationskoeffizienten von $r = 0,62$ (Abbildung 3.5). Da auch $t_{(\text{Vers})} = 5,06$ größer ist als $t_{(\text{Tab})} = 2,018$ besteht eine Korrelation zwischen beiden Parametern, weil sich r signifikant von null unterscheidet.

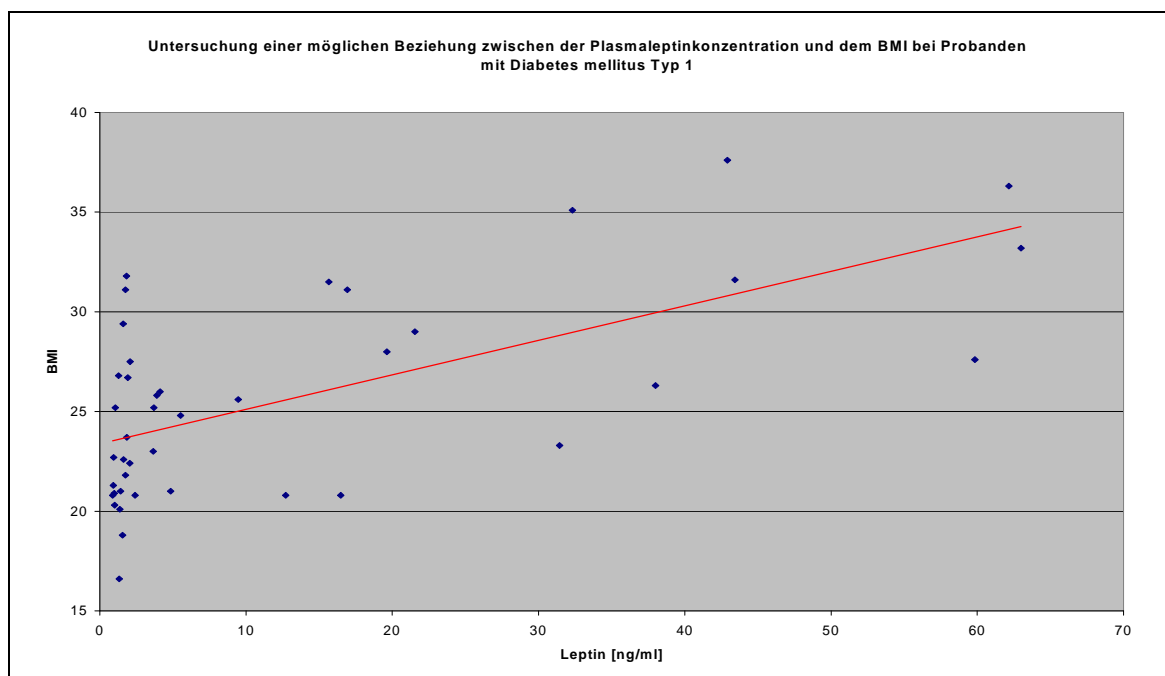


Abbildung 3.5 Darstellung der Beziehung zwischen der Plasmaleptinkonzentration und dem BMI

3.2.2 Untersuchung einer möglichen Beziehung zwischen der Resistinplasmakonzentration und dem BMI

Die durchschnittliche Plasmakonzentration des Resistins bei Probanden mit Diabetes mellitus Typ 1 beträgt $39,4 \pm 7,2$ ng/ml. Männlichen Probanden hatten eine durchschnittliche Resistinplasmakonzentration von $38,9 \pm 6,6$ ng/ml, die weiblichen Probandinnen von $40,6 \pm 8,1$ ng/ml. Die Plasmakonzentration weist allerdings keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen beiden Geschlechtern auf ($p=0,63$).

Die Korrelationsanalyse der Resistinplasmakonzentration mit dem BMI zeigte einen Maßkorrelationskoeffizienten von $r=-0,10$ (Abbildung 3.6). Da $t_{(Vers)}=0,65$ kleiner ist als $t_{(Tab)}=2,018$ besteht keine Korrelation zwischen beiden Parametern, da r sich nicht signifikant von null unterscheidet.

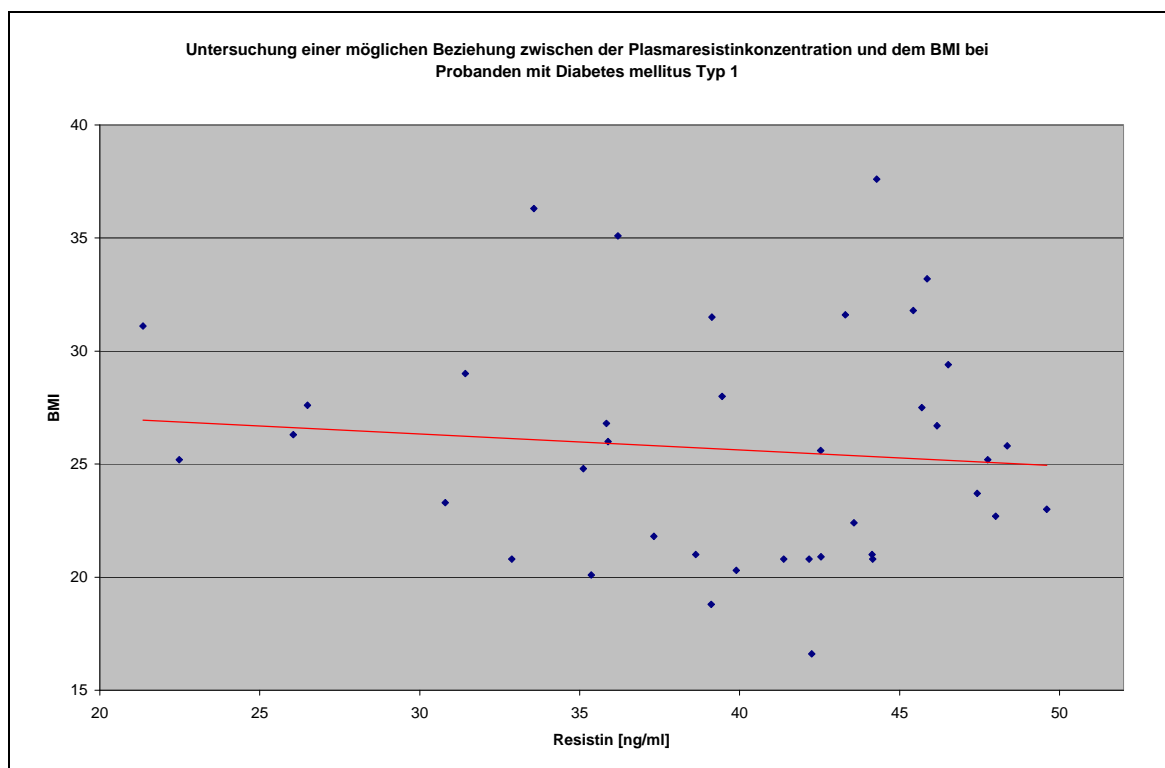


Abbildung 3.6 Darstellung der Beziehung zwischen der Plasmaresistinkonzentration und dem BMI

3.2.3 Untersuchung einer möglichen Beziehung zwischen der Resistin-plasmakonzentration und dem Blutzuckernüchternwert

Der Nüchternwert des Blutzuckers betrug in der Gruppe der Typ 1 Diabetiker durchschnittlich $149,2 \pm 75,2$ mg/dl, wobei in der vorliegenden Studie der Wert der weiblichen Probandinnen bei $165,1 \pm 29,9$ mg/dl und der der männlichen bei $121,8 \pm 54,6$ mg/dl lag (Tabelle 3.2), dieses Ergebnis ist bei $p=0,06$ statistisch nicht signifikant.

Eine ebenfalls durchgeführte Korrelationsanalyse erbrachte keine Korrelation zwischen der Plasmakonzentration des Resistins und dem Blutzuckernüchternwert (der Korrelationskoeffizient betrug $r=0,01$ und $t_{(Vers)}=0,06 < t_{(Tab)}=2,018$, siehe Abbildung 3.7).

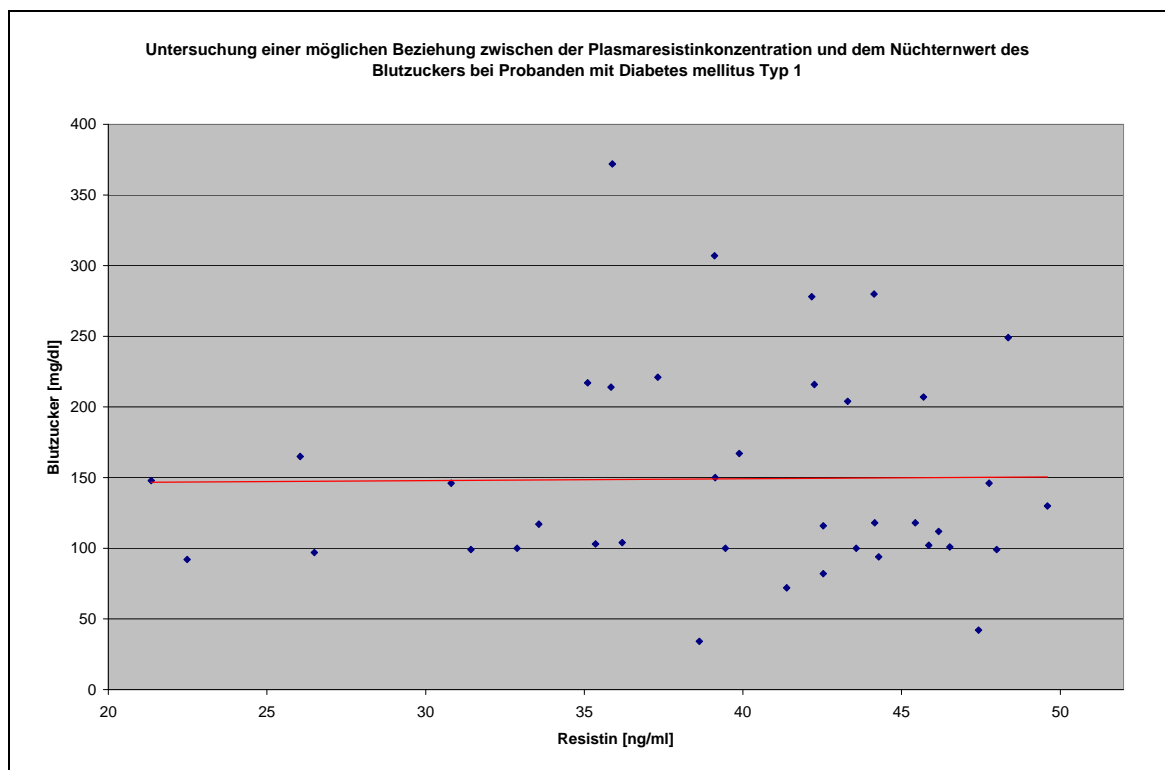


Abbildung 3.7 Darstellung der Beziehung zwischen der Plasmaresistinkonzentration und dem Nüchternwert des Blutzuckers

3.2.4 Untersuchung einer möglichen Beziehung zwischen der Plasmakonzentration von Resistin und Leptin

Zwischen der Plasmakonzentration von Resistin und Leptin ergab sich ein Maßkorrelationskoeffizient von $r=-0,31$. Verdeutlicht wird dieses Ergebnis durch

die graphische Darstellung in Abbildung 3.8. Da allerdings $t_{(Vers)}=1,88$ kleiner ist als $t_{(Tab)}=2,018$ unterscheidet sich der Maßkorrelationskoeffizient nicht signifikant von null, es liegt also keine Korrelation zwischen den beiden Parametern vor.

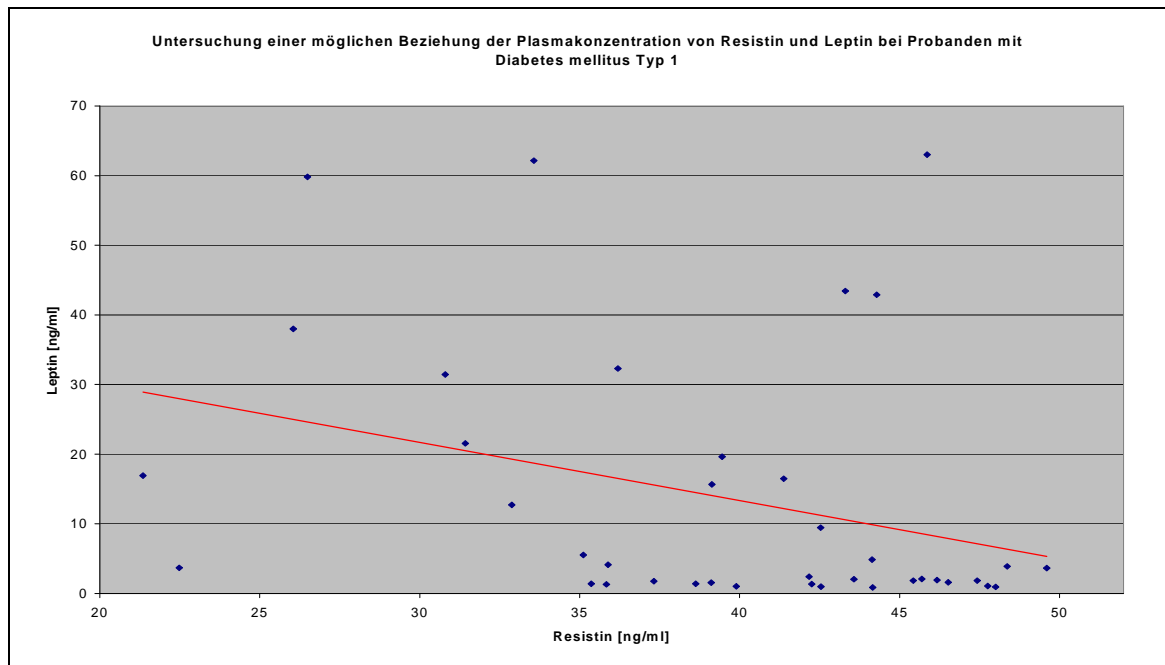


Abbildung 3.8 Darstellung der Beziehung zwischen der Plasmakonzentrationen von Resistin und Leptin

Die gemessenen Ergebnisse der Probanden mit Diabetes mellitus Typ 1 sind noch einmal in der Tabelle 3.2 in übersichtlicher Form dargestellt. Dabei sind neben den ermittelten Werten für alle Probanden auch die geschlechtsspezifischen Unterschiede getrennt aufgeführt.

| | Probanden mit Diabetes mellitus Typ 1 n=43 | Weibliche Probanden n=21 | Männliche Probanden n=22 |
|----------------------|---|-----------------------------|-----------------------------|
| Alter [Jahre] | 43,0+/-15,0 | 41,2+/-15,6 | 43,0+/-15,0 |
| Größe [m] | 1,7+/-0,1 | 1,6+/-0,1 | 1,8+/-0,1 |
| BMI | 25,6+/-5,0 | 25,4+/-5,5 | 25,7+/-4,5 |
| Blutzucker [mg/dl] | 149,2+/- 75,2 | 165,1+/-84,2 | 121,8+/-54,6 |
| HBA1c [%] | 8,0+/-1,4 | 7,9+/-1,5 | 8,3+/-1,8 |
| Cholesterin [mg/dl] | 206,4+/-30,0 | 204,9+/-29,7 | 200,7+/-33,9 |
| Triglyceride [mg/dl] | 154,0+/-101,8 | 156,1+/-95,6 | 149,1+/-104,9 |
| Resistin [ng/ml] | 39,4+/-7,2 | 38,9+/-6,6 | 40,6+/-8,1 |
| Leptin [ng/ml] | 12,9+/-18,3 | 20,4+/-21,7 | 4,5+/-7,8 |

Tabelle 3.2 Übersicht über die gewonnenen Parameter bei Probanden mit Diabetes mellitus Typ 1

3.3 Untersuchung der Hormonkonzentrationen von Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2

3.3.1 Untersuchung einer möglichen Beziehung zwischen der Leptinplasmakonzentration und dem BMI

In einer dritten Gruppe, bestehend aus 75 Probanden mit Diabetes mellitus Typ 2, betrug das durchschnittliche Alter $62,5 \pm 8,8$ Jahre bei einem BMI von $29,6 \pm 5,3 \text{ kg/m}^2$.

Die Messung der Leptinplasmakonzentration zeigte einen Durchschnittswert von $25,1 \pm 21,7 \text{ ng/ml}$. Auch in der Gruppe der Probanden mit Diabetes mellitus Typ 2 zeigten sich signifikante Unterschiede ($p < 0,001$) zwischen männlichen ($12,6 \pm 11,6 \text{ ng/ml}$) und weiblichen Probanden ($38,9 \pm 22,1 \text{ ng/ml}$).

Die weitere Analyse der gewonnenen Daten erbrachte einen Maßkorrelationskoeffizienten von $r = 0,71$ zwischen der Plasmakonzentration des Leptins und dem BMI der Probanden (Abbildung 3.9). Die Überprüfung des Maßkorrelationskoeffizienten zeigte, dass $t_{(\text{Vers})} = 8,614$ größer ist als $t_{(\text{Tab})} = 1,992$ und sich somit signifikant von null unterscheidet. Das heißt, es besteht eine positive Korrelation zwischen beiden Parametern.

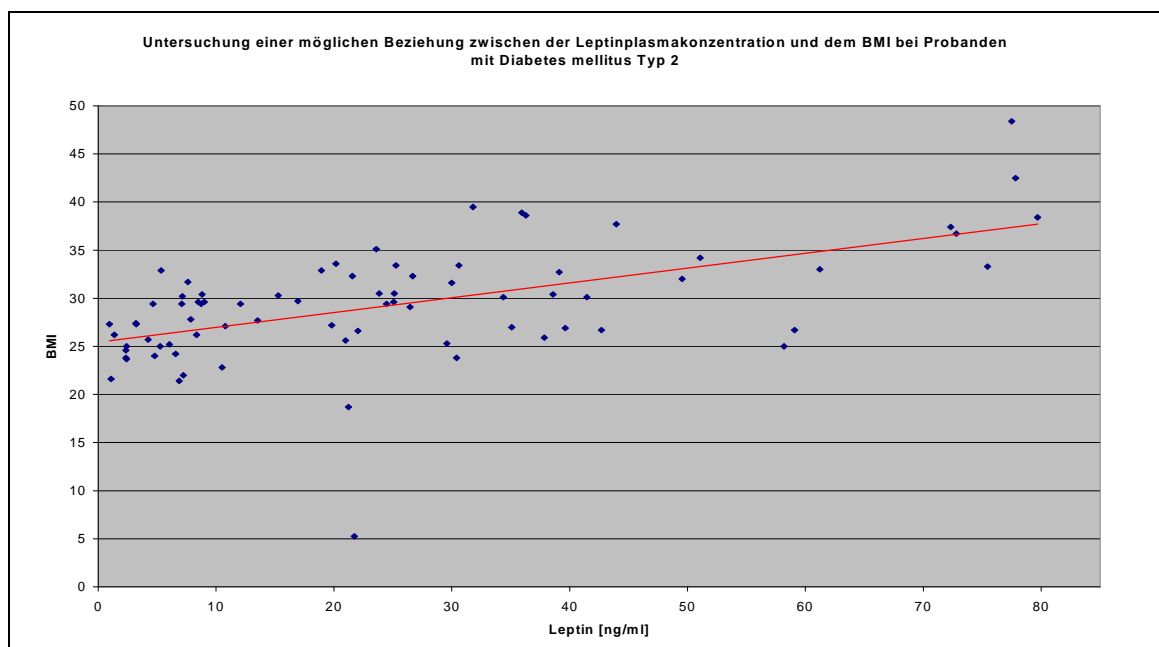


Abbildung 3.9 Darstellung der Beziehung zwischen der Plasmaleptinkonzentration und dem BMI

3.3.2 Untersuchung einer möglichen Beziehung zwischen der Resistinplasmakonzentration und dem BMI

Die Analyse der Plasmaproben hinsichtlich der Resistinplasmakonzentration erbrachte einen Wert von $38,7 \pm 8,4$ ng/ml für Typ 2 Diabetiker, wobei die durchschnittliche Plasmakonzentration der weiblichen Probandinnen mit $36,7 \pm 8,8$ ng/ml und die der männlichen mit $41,0 \pm 7,8$ ng/ml gemessen wurde (siehe Tabelle 3.3). Bei $p=0,11$ ist das gefundene Ergebnis nicht statistisch signifikant.

In dieser Studiengruppe zeigte sich ebenfalls keine Korrelation der Resistinplasmakonzentration mit dem BMI ($r=0,03$, $t_{\text{(Vers)}}=0,26 < t_{\text{(Tab)}}=1,992$), wie sie beispielsweise zwischen Leptin und BMI beobachtet werden kann (Abbildung 3.10).

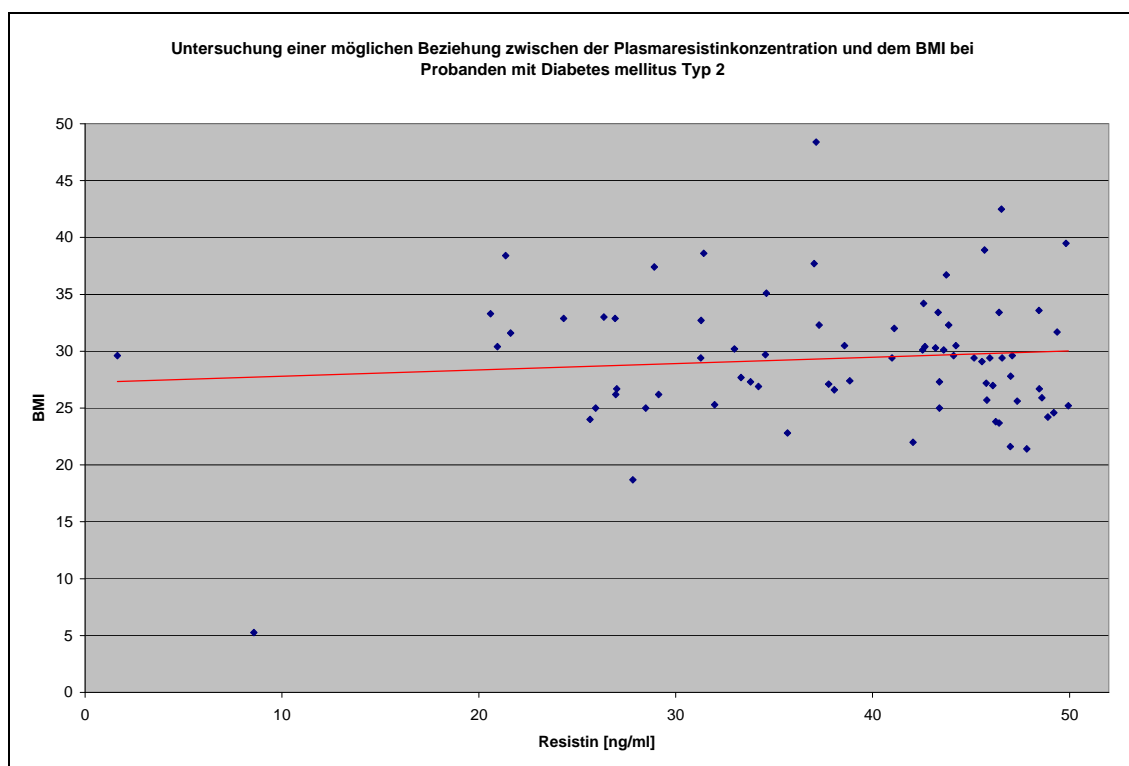


Abbildung 3.10 Darstellung der Beziehung zwischen der Resistinplasmakonzentration und dem BMI

3.3.3 Untersuchung einer möglichen Beziehung zwischen der Resistinplasmakonzentration und dem Blutzuckernüchternwert

Für den Nüchternwert des Blutzuckers ergab sich eine Serumkonzentration von $167,4 \pm 62,3$ mg/dl. Innerhalb dieser Studiengruppe betrug die Serum-

konzentration der männlichen Probanden $166,3 \pm 60,8$ mg/dl und die der weiblichen Probandinnen $165,1 \pm 84,2$ mg/dl (Tabelle 3.3).

Die Korrelationsanalyse der gewonnenen Daten hinsichtlich einer möglichen Korrelation zwischen Resistinplasmakonzentration und BMI ergab lediglich einen Korrelationskoeffizienten von $r = -0,07$ ($t_{\text{Vers}} = 0,6 < t_{\text{Tab}} = 1,992$). Damit zeigen beide Parameter keine Korrelation.

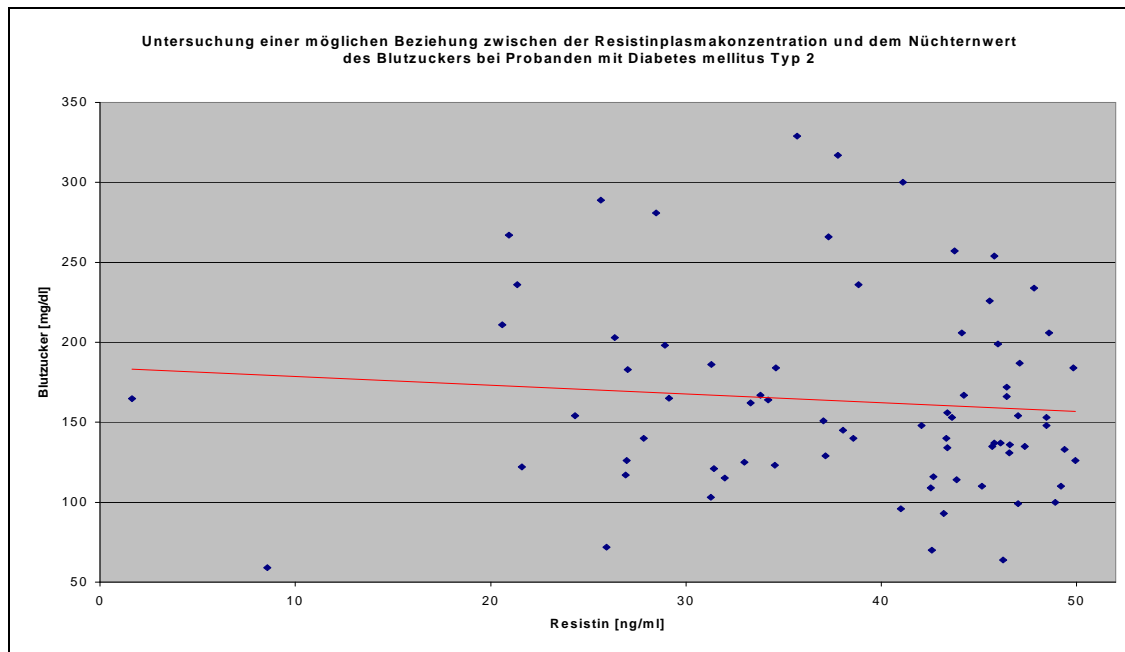


Abbildung 3.11 Darstellung der Beziehung zwischen der Resistinplasmakonzentration und dem Nüchternwert des Blutzuckers

3.3.4 Untersuchung einer möglichen Beziehung der Plasmakonzentration von Resistin und Leptin

Zwischen der Plasmakonzentration von Resistin und Leptin zeigte sich ein Maßkorrelationskoeffizient von $r = -0,23$. Da allerdings $t_{\text{Vers}} = 1,93$ kleiner ist als $t_{\text{Tab}} = 1,992$ unterscheidet sich der Maßkorrelationskoeffizient nicht signifikant von null, es liegt somit keine Korrelation zwischen beiden Parametern vor. Das gefundene Ergebnis wird noch einmal in Abbildung 3.12 verdeutlicht.

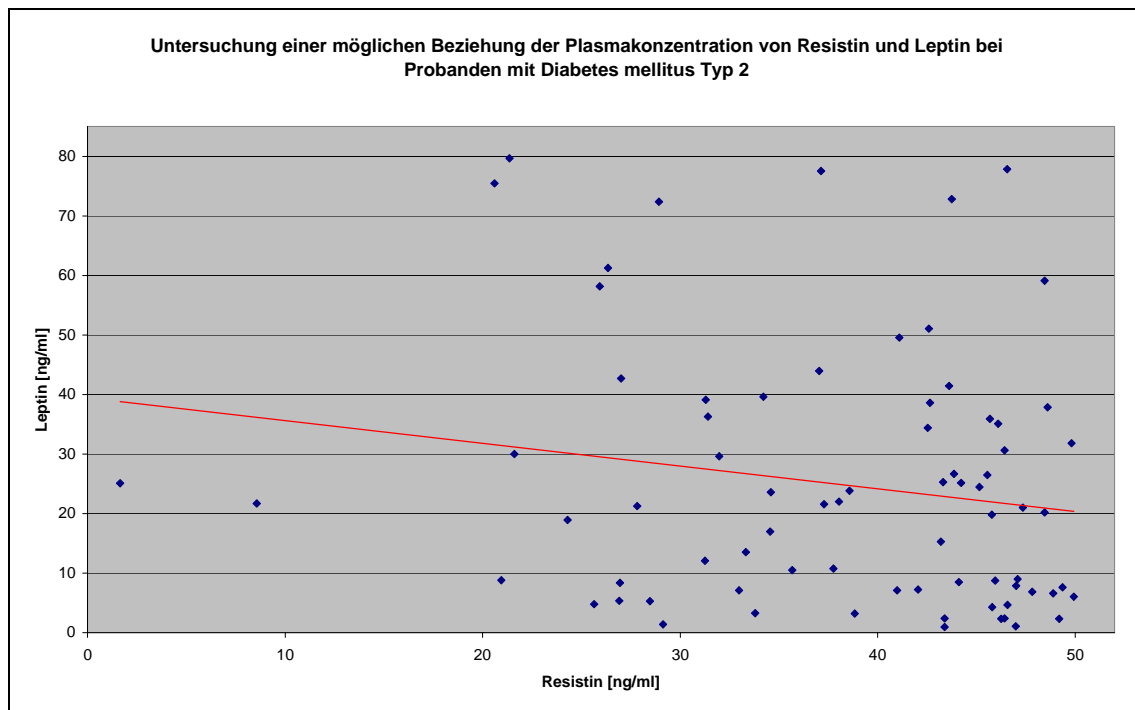


Abbildung 3.12 Darstellung der Beziehung zwischen der Plasmakonzentration von Resistin und Leptin

Die aus der Analyse der Plasmaproben ermittelten Ergebnisse sind in der Tabelle 3.3 zusammengefasst. Um auch in dieser Studiengruppe die geschlechtsspezifischen Unterschiede zu verdeutlichen, sind die ermittelten Werte für männliche und weibliche Probanden gesondert aufgeführt.

| | Probanden mit Diabetes mellitus Typ 2 n=75 | Weibliche Probanden n=38 | Männliche Probanden n=37 |
|----------------------|---|-----------------------------|-----------------------------|
| Alter [Jahre] | 62,3+/-8,9 | 62,7+/-9,7 | 62,7+/-8,3 |
| Größe [m] | 1,7+/-0,1 | 1,7+/-0,1 | 1,8+/-0,1 |
| BMI | 29,6+/-5,1 | 30,2+/-6,2 | 29,1+/-4,3 |
| Blutzucker [mg/dl] | 167,4+/-62,3 | 165,1+/-84,2 | 166,3+/-60,8 |
| HBA1c [%] | 7,8+/-1,3 | 7,7+/-1,4 | 7,8+/-1,3 |
| Cholesterin [mg/dl] | 216,4+/-64,2 | 215,6+/-42,6 | 203,5+/-44,3 |
| Triglyceride [mg/dl] | 243,3+/-160,8 | 226,2+/-119,1 | 215,3+/-109,4 |
| Resistin [ng/ml] | 38,7+/-8,4 | 36,7+/-8,8 | 41,0+/-7,8 |
| Leptin [ng/ml] | 25,1+/-21,7 | 38,9+/-22,1 | 12,6+/-11,6 |

Tabelle 3.3 Übersicht der gewonnen Analysewerte bei Probanden mit Diabetes mellitus Typ 2

3.4 Untersuchung einer möglichen Beziehung zwischen der Leptinplasmakonzentration und dem Nüchternwert des Blutzuckers

Die Analyse der gemessenen Werte für die Plasmaleptinkonzentration und den Nüchternwert des Blutzuckers ergab einen Maßkorrelationskoeffizienten von $r=0,02$ (Abbildung 3.13). Die Überprüfung des Maßkorrelationskoeffizienten zeigte, dass $t_{(Vers)}=0,28$ kleiner ist als $t_{(Tab)}=1,972$ und sich somit nicht signifikant von null unterscheidet. Somit existiert keine Korrelation zwischen beiden Parametern.

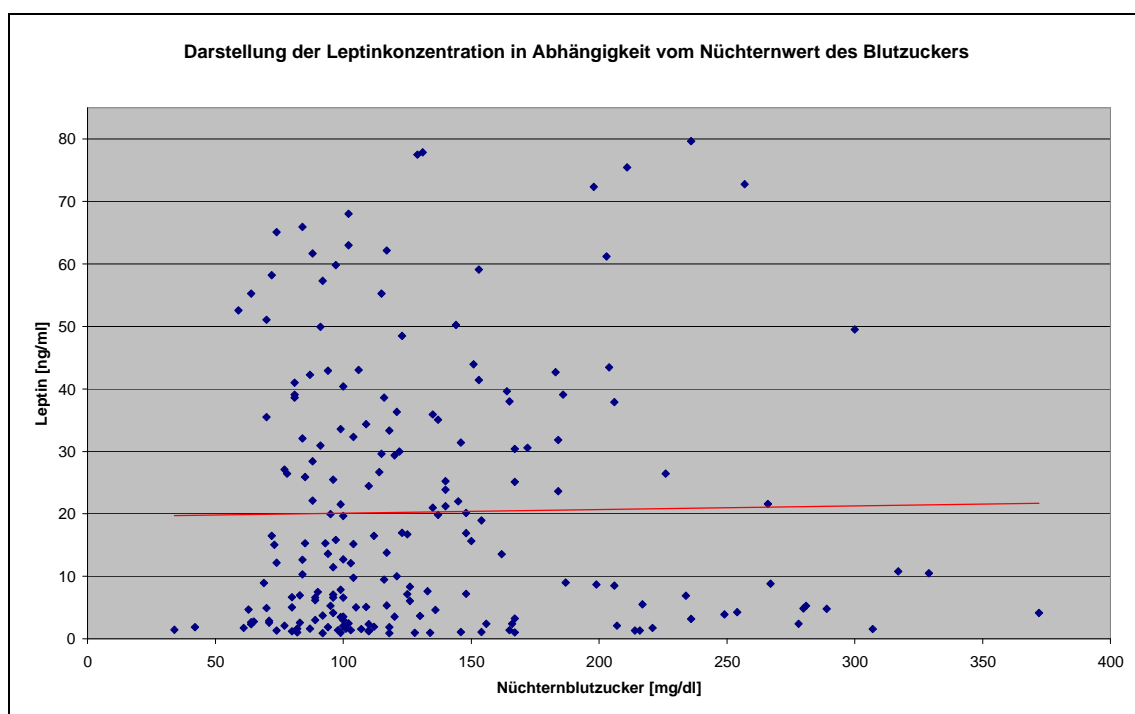


Abbildung 3.13 Beziehung zwischen der Leptinkonzentration und dem Nüchternwert des Blutzuckers.

3.5 Untersuchung möglicher Einflüsse durch Insulinsensitizer auf die Plasmakonzentrationen der untersuchten Parameter

Für die durchschnittlich $60,9 \pm 8,2$ Jahre alten Patienten, die mit Insulinsensitizern behandelt worden sind, beträgt die durchschnittliche Plasmakonzentration von Resistin $36,4 \pm 7,7$ ng/ml. Im Vergleich zu den Probanden ohne Insulinsensitizertherapie ergibt sich bei $p=0,31$ keine statistische Signifikanz.

Die Leptinkonzentration im Blutplasma der mit Insulinsensitizern behandelten Probanden betrug durchschnittlich $38,9 \pm 24,4$ ng/ml. Auch im Falle der Leptinkonzentration existiert bei $p=0,07$ kein statistischer signifikanter Unterschied zwischen den untersuchten Probandengruppen.

Lediglich die Triglyceridkonzentration weist zwischen beiden Gruppen einen signifikanten Unterschied auf ($p<0,01$). Während die Konzentration der Triglyceride im Serum der Probanden unter Insulinsensitizertherapie durchschnittlich $273,1 \pm 74,3$ mg/ml betrug, lies sich für Probanden ohne Insulinsensitizertherapie ein Wert von $243,3 \pm 160,8$ mg/ml ermitteln.

Die gefundenen Werte sind noch einmal in übersichtlicher Form in der Tabelle 3.4 dargestellt.

| | Probanden mit Diabetes mellitus Typ 2 und ohne Insulinsensitizertherapie n=75 | Probanden mit Diabetes mellitus Typ und mit Insulinsensitizertherapie n=13 |
|----------------------|---|--|
| Alter [Jahre] | $62,3 \pm 8,9$ | $60,92 \pm 8,24$ |
| Größe [cm] | $1,7 \pm 0,1$ | $1,7 \pm 0,1$ |
| BMI | $29,6 \pm 5,1$ | $33,2 \pm 6,1$ |
| Blutzucker [mg/dl] | $167,4 \pm 62,3$ | $152,2 \pm 45,6$ |
| HBA1c [%] | $7,8 \pm 1,3$ | $7,4 \pm 1,2$ |
| Cholesterin [mg/dl] | $216,4 \pm 64,2$ | $231,8 \pm 52,6$ |
| Triglyceride [mg/dl] | $243,3 \pm 160,8$ | $273,1 \pm 74,3$ |
| Resistin [ng/ml] | $38,7 \pm 8,4$ | $36,4 \pm 7,7$ |
| Leptin [ng/ml] | $25,1 \pm 21,7$ | $38,9 \pm 24,4$ |

Tabelle 3.4 Darstellung der unterschiedlichen Messergebnisse bei Probanden mit und ohne Insulinsensitizertherapie

Die mit Insulinsensitizer behandelten Patienten zeigten lediglich im Bezug auf die Höhe der Leptinkonzentration im Blutplasma statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Geschlechtern ($p<0,01$). Während die Konzentration bei männlichen Probanden $19,2 \pm 11,3$ ng/ml betrug, betrug sie bei weiblichen Probandinnen $51,2 \pm 22,4$ ng/ml.

Die ermittelten Ergebnisse sind in der Tabelle 3.5 zusammengefasst. Dabei werden die unterschiedlichen Messwerte für weibliche und männliche Probanden getrennt voneinander aufgeführt.

| | Probanden mit Diabetes mellitus Typ 2 und Insulinsensitizertherapie n=13 | Weibliche Probanden n=8 | Männliche Probanden n=5 |
|----------------------|--|-------------------------------|-------------------------------|
| Alter [Jahre] | 60,9+/-8,2 | 62,3+/-10,1 | 58,8+/-4,0 |
| Größe [cm] | 1,7+/-0,1 | 1,7+/-0,1 | 1,7+/-0,1 |
| BMI | 33,2+/-6,1 | 34,2+/-7,3 | 31,5+/-3,1 |
| Blutzucker [mg/dl] | 152,2+/-45,6 | 154,8+/-52,6 | 148,0+/-36,8 |
| HbA1c [%] | 7,4+/-1,2 | 7,5+/-1,1 | 7,3+/-1,4 |
| Cholesterin [mg/dl] | 231,8+/-52,6 | 255,7+/-48,1 | 198,2+/-41,4 |
| Triglyceride [mg/dl] | 273,1+/-74,3 | 251,0+/-70,4 | 304,0+/-75,5 |
| Resistin [ng/ml] | 36,4+/-7,7 | 35,5+/-8,5 | 38,0+/-6,7 |
| Leptin [ng/ml] | 38,9+/-24,4 | 51,2+/-22,4 | 19,2+/-11,3 |

Tabelle 3.5 Darstellung der unterschiedlichen Messergebnisse für männliche und weibliche Probanden, die mit Insulinsensitizern behandelt wurden

3.6 Unterschiede der Plasmakonzentration von Probanden mit diabetischer Stoffwechsellage im Vergleich zu stoffwechselgesunden Probanden

Die Analyse der erhobenen Daten zeigte, dass sich die untersuchten Studiengruppen lediglich im Bezug auf die Höhe des Nüchternwertes des Blutzuckers ($p < 0,01$) und im Alter ($p < 0,01$) statistisch signifikant unterscheiden haben.

Die untersuchten Parameter Leptin ($p = 0,11$), Resistin ($p = 0,64$) und Cholesterin ($p = 0,91$) weisen keine statistisch signifikanten Unterschiede bei Typ 2 Diabetikern im Vergleich zu stoffwechselgesunden Probanden auf. Lediglich die durchschnittliche Triglyceridkonzentration der Probanden mit Diabetes mellitus Typ 2 zeigt einen signifikanten Unterschied zu der durchschnittlichen Triglyceridkonzentration der stoffwechselgesunden Probanden ($p < 0,01$).

Es fanden sich ebenfalls keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen Typ 1 Diabetiker im Vergleich zu den stoffwechselgesunden Probanden im Bezug auf die untersuchten Parameter (p ist jeweils größer 0,05).

3.7 Zusammenfassung der gefunden Ergebnisse

Resistin ist im menschlichen Plasma nachweisbar und zeigt dabei keine signifikanten Unterschiede zwischen den Geschlechtern, beziehungsweise

zwischen Diabetikern und Stoffwechselgesunden. Eine mögliche Abhängigkeit von BMI oder Lebensalter konnte ebenfalls nicht nachgewiesen werden.

Es konnte eine positive Korrelation der Leptinkonzentration mit dem BMI gezeigt werden. Eine Beziehung der anderen Parameter zueinander konnte nicht nachgewiesen werden.

Die Plasmakonzentration von Leptin hat sich in den jeweiligen Studiengruppen zwischen Männern und Frauen signifikant unterschieden ($p < 0,01$). Die Abbildung 3.14 verdeutlicht noch einmal diesen Aspekt. Für die Resistinplasmakonzentration konnte keine solcher Unterschied nachgewiesen werden.

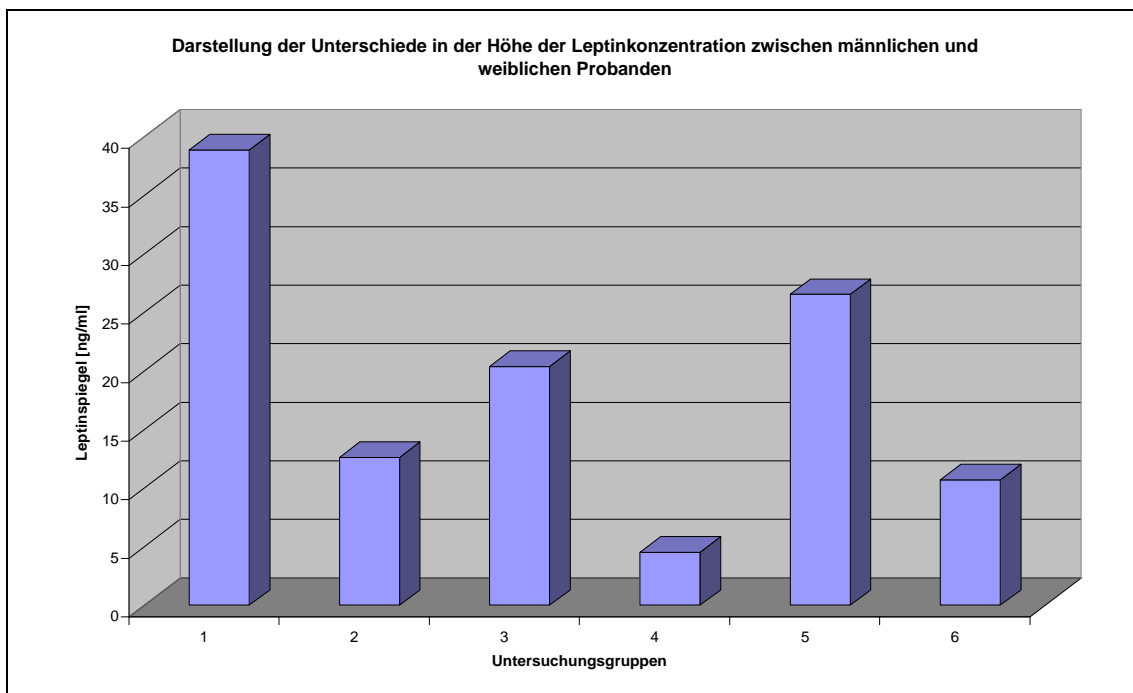


Abbildung 3.14 Die Leptinkonzentration ist abhängig vom Geschlecht und unterscheidet sich zwischen Männern und Frauen signifikant. 1 = weibliche Probanden mit Typ 2 Diabetes, 2 = männliche Probanden mit Typ 2 Diabetes, 3 = weibliche Probanden mit Typ 1 Diabetes, 4 = männliche Probanden mit Typ 1 Diabetes, 5 = stoffwechselgesunde weibliche Probanden, 6 = stoffwechselgesunde männliche Probanden

Bei Probanden mit diabetischer Stoffwechsellage lies sich im Vergleich zu stoffwechselgesunden Probanden kein signifikanter Unterschied in der Höhe der Plasmakonzentration von Leptin und Resistin nachweisen. Lediglich der Nüchternwert des Blutzuckers unterschied sich statistisch signifikant.

Schließlich zeigte sich ebenfalls kein Einfluss von sogenannten Insulinsensitizer aus der Gruppe der Thiazolidinedione auf die Resistinkonzentration von Typ 2 Diabetikern.

In Form der Tabelle 3.6 sind noch einmal die gefundenen Ergebnisse in übersichtlicher Form zusammengestellt. Dabei werden die einzelnen Studiengruppen getrennt voneinander dargestellt.

| | Stoffwechselgesunde Probanden n=76 | Probanden mit Diabetes mellitus Typ 1 n=43 | Probanden mit Diabetes mellitus Typ 2 n=75 |
|--------------------------|--|--|--|
| Alter [Jahre] | 53,7+/-16,9 | 43,0+/-15,0 | 62,3+/-8,9 |
| Größe [m] | 1,7+/-0,1 | 1,7+/-0,1 | 1,7+/-0,1 |
| Gewicht [kg] | 75,5+/-15,0 | 75,0+/-18,0 | 86,6+/-17,3* |
| BMI [kg/m ²] | 26,3+/-5,3 | 25,6+/-5,0 | 29,6+/-5,1* |
| Blutzucker [mg/dl] | 92,3+/-16,5 | 149,2+/-75,2* | 167,4+/-62,3* |
| HBA1c [%] | - | 8,0+/-1,4 | 7,8+/-1,3 |
| Cholesterin [mg/dl] | 210,1+/-44,9 | 206,4+/-29,9 | 216,4+/-64,2 |
| Triglyceride [mg/dl] | 168,4+/-117,7 | 154,0+/-101,8 | 243,3+/-160,8* |
| Resistin [ng/ml] | 38,8+/-7,5 | 39,4+/-7,2 | 38,7+/-8,4 |
| Leptin [ng/ml] | 19,8+/-19,5 | 12,9+/-18,3 | 25,1+/-21,7 |

Tabelle 3.6 Darstellung der epidemiologischen Daten und gewonnenen Ergebnisse der drei untersuchten Studiengruppen

4 Diskussion

Die wichtigsten Aspekte in der Pathophysiologie des Diabetes mellitus Typ 2 sind einerseits die verminderte Insulinsekretion und andererseits eine zunehmende Insulinresistenz am entsprechenden peripherem Zielgewebe mit Hyperinsulinämie. Die Insulinresistenz führt ihrerseits zu einer verminderten Glucoseaufnahme in das jeweilige Zielgewebe, zu einem Anstieg der Gluconeogenese in der Leber und zu einer ungenügenden Suppression der Lipolyse. Außerhalb der Leber zeigt sich die Insulinresistenz hauptsächlich im Fettgewebe und im Skelettmuskel (De Fronzo et al. 1992, Efendic et al. 1993, Gerich et al. 1998).

Im Allgemeinen werden für die Pathogenese des Diabetes mellitus genetische Einflüsse und Umwelteinflüsse verantwortlich gemacht. Als wesentliche Umwelteinflüsse gelten Lebensstil, Übergewicht und verminderte körperliche Aktivität (Hamman et al. 1992). Eine Großzahl der Patienten zeigen das ursprünglich von Reaven et al. (1995) beschriebene metabolische Syndrom. Die monogenetische Komponente in der Pathogenese des Diabetes konnte bisher lediglich bei einer kleinen Anzahl von Diabetikern beschrieben werden. Dies gilt vor allem für die Diabetestypen LADA (latent autoimmune diabetes of the adult, Niskanen et al. 1995) und MODY (maturity-onset diabetes of the young), der autosomal dominant vererbt wird (Velho et al. 1995). Für die Mehrheit der Diabetiker wird eine polygenetische Komponente beschrieben (Lander et al. 1994), ein exakter Nachweis steht jedoch noch aus.

Daher ist es von besonderer Bedeutung, den molekularen Mechanismus zu verstehen, der zu einer Insulinresistenz führt, um zum Einen die Pathogenese des Diabetes mellitus besser verstehen zu können und zum Anderen ein pharmakologisches Therapeutikum zu entwickeln, dass effektiv in der Therapie des Diabetes mellitus Typ 2 eingesetzt werden kann.

Resistin, dass in den Adipozyten von Mäusen sezerniert wird, galt bei seiner Entdeckung als entscheidender Schritt auf dem Weg dieses Ziel zu erreichen. Durch die Applikation eines Resistin-Antikörpers kommt es bei Mäusen zu einer verbesserten Aufnahme von Glucose in das entsprechende Zielgewebe

(Steppan et al. 2001). Umgekehrt führt die Gabe von Resistin zu Glucoseintoleranz und Insulinresistenz (Steppan et al. 2001). Inzwischen wird der Einfluss von Adipositas auf die Resistin-Expression und Insulinresistenz sehr kontrovers diskutiert. So existieren sowohl Studien, in denen über eine supprimierte Resistin-Genexpression bei Ratten, mit genetisch oder diätisch induzierter Adipositas nachgewiesen wurde, als auch Studien, in denen eine erhöhte Resistin-Genexpression bei diesen Tieren beobachtet wurde (Ling et al. 2001, Levy et al. 2002, Juan et al. 2001, LeLay et al. 2001). Im Tierexperiment verbesserte Resistin die Insulinsensitivität in der Leber (Rajala 2003).

Das menschliche Resistin wird ebenfalls von den Adipocyten sezerniert (Nagaev et al. 2001, McTernan et al. 2002). Allerdings hat sich gezeigt, dass Resistin sehr stark in Präadipozyten und nur sehr schwach in ausdifferenzierten Adipozyten exprimiert wird. Savage et al. (2001) entdeckten eine verstärkte Resistin-Expression im Fettgewebe adipöser Probanden und einen noch höheren Anteil der Resistin-mRNA in mononuklearen Zellen, im Vergleich zu den subkutanen Fettzellen. Eine Beziehung zwischen Körpergewicht, Insulinsensitivität oder anderen metabolischen Parametern und Resistin-Genexpression lies sich bisher nicht nachweisen (Janke et al. 2002).

Bisher existieren lediglich wenige Daten über die Resistin-mRNA. Allerdings scheint es keine Korrelation zwischen einer Insulinresistenz und der Resistin-mRNA Konzentration zu geben (Janke et al. 2002). Darüber hinaus konnte Resistin im menschlichen Blutplasma bei Stoffwechselgesunden oder Diabetikern bisher nicht nachgewiesen werden.

In der vorliegenden Arbeit gelang es erstmals Resistin im menschlichen Plasma nach zu weisen. Die ermittelten Daten zeigen allerdings keine signifikanten Unterschiede in der Höhe der Resistinplasmakonzentration von Stoffwechselgesunden und Diabetikern, so dass ein entscheidender Einfluss von Resistin in der Pathogenese des Diabetes mellitus als eher unwahrscheinlich angesehen werden kann. Darüber hinaus zeigte sich keine Korrelation zwischen Resistin und anderen metabolischen Parametern. Dieses

Ergebnis deckt sich sehr gut mit den bereits erwähnten Erkenntnissen von Jahnke et al. (2002).

Yannakoulia et al. ermittelten 2003 eine schwache, positive Korrelation zwischen Resistinkonzentration und BMI ($r=0,25$). Darüber hinaus zeigten sich signifikante, geschlechtsspezifische Unterschiede in der Resistinkonzentration bei jungen stoffwechselgesunden griechischen Schülern. Diese geschlechtsspezifischen Unterschiede zeigten sich in der vorliegenden Arbeit weder bei Probanden mit Diabetes mellitus, noch bei stoffwechselgesunden Probanden. Darüber hinaus zeigte sich keine Abhängigkeit des BMI von der Höhe der Resistinplasmakonzentration. Die von Yannakoulia et al. ermittelten Daten besitzen wohl lediglich für Jugendliche Gültigkeit, denn die für diese Studie rekrutierten 114 Probanden hatten ein Durchschnittsalter von $17,5 \pm 1,6$ Jahren bei den weiblichen Probandinnen, beziehungsweise von $17,8 \pm 1,8$ Jahren bei den männlichen Probanden. Im Gegensatz dazu basieren die in dieser Arbeit ermittelten Daten auf einem Probandenkollektiv, das ein Durchschnittsalter von $54,8 \pm 15,7$ Jahren aufweist und daher eher die realen Verhältnisse der Altersstruktur einer Bevölkerung widerspiegelt. Die unterschiedlichen Ergebnisse können daher wohl am ehesten auf die unterschiedliche Struktur beider Studienpopulationen zurückgeführt werden.

Resistin entfaltet bei Mäusen seine Wirkung über die Bindung an PPAR γ -Rezeptoren (Steppan et al. 2001). Über diesen Rezeptor entfalten auch Insulinsensitizer der Gruppe der Thiazolidinedione ihre Wirkung. Rosiglitazon gehört zu den Thiazolidinedionen („Glitazone“), einer Gruppe von Medikamenten, die die gestörte Insulinsensitivität bei Diabetes mellitus Typ 2 über eine Aktivierung des PPAR γ -Rezeptors verbessern (Spiegelman et al. 1998).

Bei Tieren zeigen verschiedene genetische Modelle von Adipositas, bzw. Diabetes mellitus im Vergleich zu einer Kontrollgruppe, bestehend aus schlanken Tieren, nach Gabe von Rosiglitazon einen Abfall der Resistin-mRNA Konzentration (Way et al. 2001). Durch die Gabe von PPAR γ -Agonisten werden bei diesen Tieren die PPAR γ -Zielgene FATP (fatty acid transporter protein) und

PEPCK (phosphoenolpyruvate carboxykinase) stimuliert. Dies hat den Anstieg der Resistin-mRNA im weißen Fettgewebe zur Folge (Way et al. 2001). Versuche mit 3T3-L1 Adipozyten, die häufig als Model für die insulinvermittelte Glucoseaufnahme dienen, zeigen nach Verabreichung von Rosiglitazon eine supprimierte Regulation der Resistinexpression (Steppan et al. 2001).

Allerdings konnte bisher nicht nachgewiesen werden, dass die Resistin-Expression im menschlichen Organismus direkt durch PPAR γ , wie von Steppan et al. bei Tieren postuliert, vermittelt wird (Savage et al. 2001).

Im Vergleich zum Einfluss der PPAR γ -Agonisten auf das weiße Fettgewebe ist die Wirkung der PPAR γ -Agonisten auf die Resistin-mRNA Expression im braunen Fettgewebe lediglich gering (Fukui et al. 2002).

In einer weiteren Studien konnte eine verminderter Resistin-Expression nach Behandlung mit Thiazolidinedionen festgestellt werden (Haugen et al. 2001). Interessanterweise zeigten sich in einer Gruppe von Typ 2 Diabetikern, die mit Rosiglitazon oder Pioglitazon behandelt wurden im Vergleich zu der nicht mit diesen Substanzen behandelten Referenzgruppe leichte, allerdings nicht signifikant, supprimierte Resistinkonzentrationen. Die gefundenen Ergebnisse decken sich mit denen dieser Arbeit und lassen den Schluss zu, dass Resistin höchstwahrscheinlich keine entscheidende Rolle im Pathomechanismus von Adipositas und Diabetes mellitus Typ 2 spielen. Allerdings ist es erforderlich, mittels einer weiteren Studie den Verlauf der Resistinkonzentration unter der Therapie mit Rosiglitazonen über einen längeren Zeitraum unter standardisierten Bedingungen zu untersuchen, um ein Eingreifen der Rosiglitazone in den Resistin-Stoffwechsel auszuschließen.

Die Arbeit von Steppan et al. (2001) zeigte, dass die Applikation von Resistin im Tierexperiment zu einer verschlechterten Glucosetoleranz und somit zu einem Blutzuckeranstieg führte. Daher stellte sich die Frage, ob man auch im Umkehrschluss bei hohen Blutzuckerkonzentrationen eine erhöhte Konzentration von Resistin im Blutplasma nachweisen kann. Durch die Auswertung der in dieser Arbeit erhobenen Daten zeigte sich, dass ein solcher Schluss beim Menschen eher unwahrscheinlich ist, da sich keine positive

Korrelation der Resistin-Plasmakonzentration mit der Höhe der Blutzuckerkonzentration zeigen lies.

Experimente an 3T3-L1 Adipozyten zeigen eine Abnahme der insulin-induzierten Resistin-mRNA lediglich im glucosefreien Medium. Das legt die Vermutung nahe, dass der Insulineffekt auf Resistin nicht durch einen erhöhten Glucosemetabolismus zustande kommt (Kawashima et al. 2003).

Während die Leptinkonzentration des Blutplasmas und der BMI stark positiv korreliert sind, findet sich eine solche Abhängigkeit zwischen Resistin und BMI nicht. Das kann als Hinweis verstanden werden, dass die von Stepan et al. (2001) gefundene, durch Resistin induzierte, Insulinresistenz höchst wahrscheinlich nicht über einen hohen Körperfettanteil erfolgt. Daher ist es in Zukunft notwendig, in weiteren Studien den genauen Wirkmechanismus des Resistins bei der Entstehung einer Insulinresistenz zu untersuchen.

Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass die in dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse letztlich dadurch entstanden sind, dass die Zusammensetzung der einzelnen Gruppen zum Teil signifikante Unterschiede aufweist. Dies lässt sich allerdings nur schwerlich vermeiden, denn Pathogenese und Manifestation der beiden Diabetesformen sind sehr unterschiedlich. Während sich der Typ 1 Diabetes bevorzugt bei jüngeren Menschen aufgrund eines autoimmunologischen Geschehens in Form von zirkulierenden Antikörpern gegen Inselzellantigene wie Insulin, Glutamatdecarboxylase und die Proteinphosphatase IA-2, manifestiert (Leslie et al. 1999), entwickelt sich der Typ 2 Diabetes bevorzugt bei älteren, adipösen Menschen aufgrund nachlassender Insulinsekretion und zunehmender Insulinresistenz am entsprechenden Zielgewebe (De Fronzo et al. 1992, Efendic et al. 1993, Gerich et al. 1998). Aufgrund dieser Tatsache war es unmöglich, dass die einzelnen Versuchsgruppen eine gleiche Altersstruktur und vergleichbare Konstitutionstypen aufweisen.

Letztlich können die gewonnenen Ergebnisse durch eine zu niedrige Fallzahl verursacht worden sein. Um einen Normalwert für die Resistinkonzentration im Blutplasma festzulegen, sind weitere Studien mit hohen Fallzahlen nötig.

Da es zur Zeit noch keine Daten gibt, die zeigen, über welchen Zeitraum Resistin in gefrorenem Blutplasma stabil und nachweisbar bleibt, kann nicht ausgeschlossen werden, dass die gefundenen Ergebnisse durch eine falsche Lagerung beeinflusst worden sein könnten.

Die in dieser Arbeit ermittelten Daten zeigen nicht die von Steppan et al. (2001) postulierte zentrale Rolle des Resistin in der Entstehung von Adipositas und Insulinresistenz. Allerdings ist letztlich noch unklar, ob Resistin auch bei Menschen zu den zirkulierenden Hormonen gehört oder lediglich parakrine oder autokrine Funktionen besitzt.

Resistin gehört zu einer Familie von Proteinen (Resistin-like molecules; RELM), die durch ein cysteinreiches C-terminales Ende charakterisiert sind. RELMa, das erste Protein dieser Gruppe, weist am C-Terminus eine hohe Ähnlichkeit mit Resistin auf (63%), während die Übereinstimmung am N-Terminus eher gering ist. Die höchste Konzentration von RELMa lässt sich im weißen Fettgewebe nachweisen (Steppan et al. 2001).

Die C-terminale Sequenz der RELM-Familie (Resistin like molecules) besitzt zehn Cysteinreste (Steppan et al. 2001, Holcomb et al. 2000, Banerjee et al. 2001). Resistin und RELM β verfügen jeweils über einen elften Cysteinrest (Cys26), der für eine Homodimerisation notwendig ist. Die Dimerisierung kommt wohl durch eine Disulfidbindung, die sich zwischen den beiden Cysteinresten (Cys26) ausbildet, zustande. Die übrigen zehn Cysteinreste sind an intrazellularen Disulfidbindungen beteiligt und damit verantwortlich für die Ausbildung der Tertiärstruktur (Banerjee et al. 2001).

Ein wenig eher als Steppan et al. entdeckte eine zweite Arbeitsgruppe ebenfalls dieses Protein in der Entzündungszone von Mäusen mit allergischer Lungenentzündung und nannte es FIZZ1. Dieses Protein besteht aus 111 Aminosäuren, hat ein molekulares Gewicht von 9,4 kDA und weist eine Übereinstimmung von 29% mit Resistin auf (Holcomb et al. 2000). RELMa wird im Brustgewebe, im Herz, in der Lunge und in der Zunge exprimiert (Steppan et al. 2001).

Ein zweites RELM-Protein befindet sich im Kolon der Maus (Holcomb et al. 2000, Steppan et al. 2001). RELM β ist dem Resistin ebenfalls recht ähnlich, besonders im C-Terminus, und kann ebenfalls im Kolon des Menschen und in geringerer Konzentration im Caecum und Ileum nachgewiesen werden (Steppan et al. 2001). Holcomb et al. (2000) entdeckten RELM β , als FIZZ2, in besonders hoher Konzentration im Kolon. RELM β verbessert an der Leber potent die Insulin-Sensitivität (Rajala et al. 2003). Somit konnte für RELM β erstmals eine funktionelle Verbindung zwischen Darm und Leber dargestellt werden und es wird über eine lokale Wirkung des RELM β im abdominalen Bereich spekuliert.

Die Resistin-Sekretion ist im abdominalen Fettgewebe besonders ausgeprägt (McTernan 2002), daher kann es bei einem Typ 2 Diabetiker ebenfalls gut möglich sein, dass die Resistinkonzentration in dieser Region gegenüber der eines Stoffwechselgesunden deutlich erhöht ist (Savage et al. 2001) und somit mit dem Insulin- und Glukagonstoffwechsel in der Leber interagiert.

Diese These wird durch die Tatsache erhärtet, dass das Blut des abdominalen Fettgewebes direkt über das Pfortadersystem in die Leber drainiert wird. Aufgrund der gegebenen anatomischen Verhältnisse ließe sich ein pathologischer Glucosestoffwechsel, bzw. eine Insulinresistenz im Bereich der Leber, ohne eine pathologisch erhöhte systemische Resistinkonzentration, erklären.

Es scheint jedoch noch ein wenig verfrüht, über solche Detailfragen zu spekulieren, solange es noch keine endgültigen Informationen über den Resistin-Rezeptor gibt.

Inzwischen hat man durch Sequenzierungen des Resistings einzelne Punktmutationen finden können. Obwohl ihre Auswirkungen auf die Entstehung von Adipositas und Diabetes mellitus Typ 2 noch nicht abschließend geklärt sind, scheinen sie bei der Großzahl der Diabetiker keine Rolle zu spielen, denn letztlich sind diese Mutationen in vergleichbarer Häufigkeit bei Diabetikern und stoffwechselgesunden aufgetreten (Osawa et al. 2002, Sentinelli et al. 2002).

Kostalova et al. (2001) konnten den Zusammenhang zwischen Adipositas und Insulinresistenz schon im Kindesalter nachweisen. Nachkommen diabetischer Mütter zeigten einen erhöhten BMI im Vergleich zu Nachkommen stoffwechselgesunder Mütter. Während die gemessene Insulinkonzentration in beiden Gruppen identisch war, waren die Blutzuckerwerte der Nachkommen diabetischer Mütter deutlich erhöht. Bisher ist es allerdings noch nicht gelungen, den genauen Mechanismus dieser Beziehung zu klären.

Bei Mäusen konnte Coleman et al. (1978) zeigen, dass die Mutation des ob- (obese) oder des db-Gens (diabetes) zu Fettleibigkeit und Diabetes führt. Mäuse, bei denen diese Mutation nachweisbar ist, weisen in zahlreichen Parametern Parallelen zu menschlichen Diabetikern auf (Friedman et al. 1992). Schon bald nach der Entdeckung dieses Zusammenhangs stellte sich die Frage nach der Übertragbarkeit auf den Menschen. Screeninguntersuchungen des ob-Gens bei adipösen Probanden zeigten jedoch keine Mutation innerhalb dieses Gens bei fast allen Probanden (Maffei et al. 1996). Allerdings gibt es Berichte von Einzelfällen, die homozygote Mutationen im Leptingen aufweisen, was zu einem kongenitalen Leptindefizit führt. Patienten, die heterozygot für diese Mutation sind, haben hingegen normale Leptinkonzentrationen und zeigen keine Anzeichen der Adipositas oder eines pathologischen Metabolismus. Charakteristisch für die homozygot Betroffenen ist eine frühe, extreme Adipositas, sehr niedrige Leptinkonzentrationen, ein verschlechtertes Sättigungsgefühl und eine Hyperinsulinämie (Montague et al. 1997, Strobel et al. 1998, Ozata et al. 1999). Die Therapie mit rekombiniertem menschlichen Leptin führte zu einer Gewichtsabnahme und zur Verbesserung aller metabolischen Entgleisungen (Farooqi et al. 1999).

Da diese Mutationen im Leptingen äußerst selten sind (wenige Einzelfälle wurden beschrieben), adipöse Menschen aber sehr hohe Leptinkonzentrationen und eine starke Korrelation mit Körperfett und BMI aufweisen (Considine et al. 1996, Maffei et al. 1995), liegt die Vermutung einer Leptinresistenz, vergleichbar der Insulinresistenz bei Typ 2 Diabetikern, nahe.

Eine solche Resistenz kann auf verschiedenen Stufen der Signalkette entstehen (Caro et al. 1996). Zunächst kann ein Rezeptordefekt, wie er bei db/db-Mäusen, fa/fa-Ratten oder Koletsky Ratten gesehen wird, die Ursache einer Leptinresistenz sein (Considine et al. 1996, Rolland et al. 1998). Allerdings hat man einen solchen Rezeptordefekt beim Menschen erst einmal nachweisen können (Clément et al. 1998).

Ein anderer möglicher Mechanismus stellt die mögliche Inbalance zwischen Leptin und zugehörigem Bindeprotein dar. Ist der Anteil des gebundenen Leptins zu hoch, kann dies zu einer Minderung der biologischen Aktivität des Hormons führen. Sinha et al. (1996) beobachteten, dass sich das Verhältnis von gebundenem zu freiem Leptin bei schlanken und fettleibigen Probanden unterscheidet.

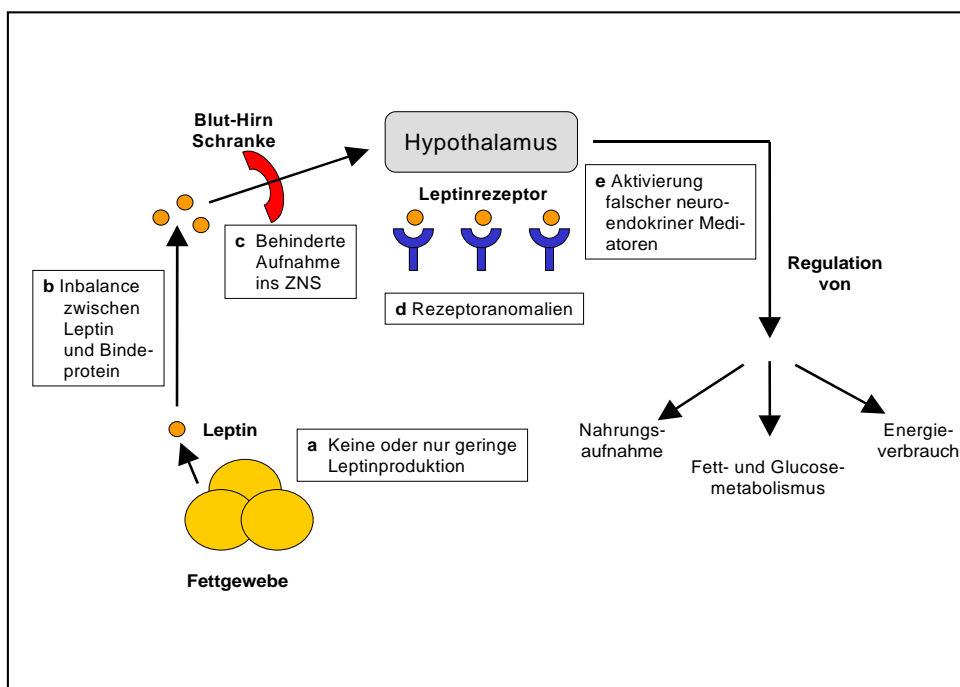


Abbildung 4.1 Durch Fehlfunktionen und Dysregulationen kann Leptin an verschiedenen Stellen des Stoffwechsels zu Adipositas führen. So ist eine Regulationsstörung an fünf Stellen (a-e) des Regelkreises möglich.

Das Transportsystem von Leptin in das ZNS ist ebenfalls eine mögliche Ursache für die Entstehung der Resistenz. An New Zealand Obese Mäusen, die als Modell für diese Form der Insulinresistenz gelten, löst die periphere Gabe von Leptin keine Antwort aus. Eine intraventrikuläre Injektion hingegen führt zur physiologischen Antwort (Van Heek et al. 1997). Bei adipösen Menschen findet

man ein reduziertes Verhältnis der Leptinkonzentration im Serum im Vergleich zur Leptinkonzentration im Liquor (Schwartz et al. 1996, Caro et al. 1996).

Schließlich kann die Insulinresistenz auch durch einen Defekt in der Transduktion nach erfolgter Rezeptorbindung bedingt sein. Dies würde entsprechend zur Aktivierung falscher neuroendokriner Mediatoren führen.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen einen Zusammenhang zwischen Leptinplasmakonzentration und BMI, so dass Personen mit einem hohen BMI in der Regel auch eine hohe Leptinplasmakonzentration aufweisen. Für den zugrundeliegenden Pathomechanismus gibt es bisher noch keine Erklärung.

Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 weisen im Vergleich zu Stoffwechselgesunden eine signifikant erhöhte Triglyceridkonzentration auf ($p < 0,01$). Es lässt sich allerdings keine Korrelation zwischen BMI und Triglyceridkonzentration bei Typ 2 Diabetikern nachweisen. Ebenso wenig ergibt sich ein Hinweis auf eine enge Beziehung zwischen Leptin- und Triglyceridkonzentration im Blutplasma. Das legt den Schluss nahe, dass die Triglyceride höchstwahrscheinlich keine entscheidende Rolle in der Leptinregulation spielen.

In der Literatur gibt es Hinweise auf eine schwache Korrelation zwischen dem Nüchternwert des Blutzuckers und der Leptinkonzentration (Guler et al. 2000). Clément et al. (1997) sahen einen Zusammenhang zwischen der Höhe des Blutzuckers und der Leptinkonzentration. So fanden sie bei Probanden mit niedrigeren Werten des Nüchternblutzuckers höhere Werte der Leptinkonzentration. Die Ergebnisse wurden von einer zweiten Arbeitsgruppe, die die erniedrigte Leptinkonzentration auf einen zunehmenden Insulinsekretionsdefekt zurückführten, bestätigt (Guler et al. 2000). Durch die in dieser Arbeit ermittelten Daten gibt es keinerlei Hinweise auf eine solche Beziehung (siehe Abbildung 3.13 im Ergebnisteil). Die beiden Parameter weisen lediglich einen Maßkorrelationskoeffizienten von $r = 0,02$ auf. Anhand der Daten dieser Arbeit ist es also nicht möglich, einen Einfluss des Leptins auf die Regulation des Blutzuckers zu postulieren.

Die Leptin- und Insulinkonzentration steigen mit der Nahrungsaufnahme an. Leptin hat seinerseits wiederum einen hemmenden Effekt auf menschliche Inselzellen, die hohen Glucosekonzentrationen ausgesetzt sind (Fehmann et al. 1997). Gleichzeitig führt jedoch eine Langzeittherapie mit Leptin zu einer deutlichen Verbesserung des Blutzuckers und zu einer Reduktion der antidiabetischen Medikation bei Patienten mit Lipodystrophie (Petersen et al. 2002).

Die Plasmakonzentration des Leptins zeigt signifikante Unterschiede ($p < 0,01$) zwischen dem männlichen und weiblichen Geschlecht (siehe Abbildung 3.14 im Ergebnisteil). Während die Leptinkonzentration der weiblichen Probandinnen durchschnittlich bei $28,9 \pm 15,3$ ng/ml lag, lag die der männlichen Probanden bei $9,1 \pm 9,0$ ng/ml. Dieser Unterschied war unabhängig vom BMI, der in dieser Studie bei beiden Geschlechtern annähernd identisch war ($27,3 \pm 5,0$ ng/ml bei den weiblichen Probandinnen, $27,2 \pm 5,3$ ng/ml bei den männlichen Probanden).

Andere Studien, zum Teil mit einer kleineren Fallzahlen, zeigten ebenfalls vom BMI unabhängige Unterschiede der Leptinkonzentration zwischen den Geschlechtern (Ostlund et al. 1996, Passaro et al. 2001). Die Höhe der jeweils gemessenen Leptinkonzentration war unabhängig vom Vorhandensein eines Diabetes mellitus Typ 2. Dieses Ergebnis konnte mit der vorliegenden Arbeit bestätigt werden, da für die durchschnittlich gemessene Leptinkonzentration der Typ 2 Diabetiker im Vergleich zu der der Stoffwechselgesunden $p = 0,11$ beträgt.

Die höchste Leptinkonzentration konnte bei weiblichen Probandinnen mit einem Diabetes mellitus Typ 2 nachgewiesen werden ($38,9 \pm 22,1$ ng/ml), der niedrigste Wert bei männlichen Typ 1 Diabetikern ($4,5 \pm 7,8$ ng/ml). Allerdings war auch der ermittelte BMI in der Gruppe der weiblichen Typ 2 Diabetikerinnen im Vergleich zu den anderen untersuchten Gruppen am höchsten. Da die Leptinkonzentration positiv mit dem BMI korreliert ist, kann für die hohe Leptinkonzentration der weiblichen Typ 2 Diabetikerinnen auch der hohe BMI als Erklärung dienen.

Wodurch der signifikante Unterschied der Leptinkonzentration zwischen den Geschlechtern letztlich zustande kommt, ist noch nicht sicher geklärt. Zur Zeit wird in der Literatur über eine entscheidende Rolle der Sexualhormone auf die Leptinkonzentration kontrovers diskutiert.

Die höheren Leptinkonzentrationen bei Frauen, im Vergleich zu denen der Männer mit vergleichbarer totaler Fettmasse (Ostlund et al. 1996, Kennedy et al. 1997), legt eine Beteiligung der Sexualhormone bei der Regulation nahe. Für Testosteron konnte eine Reduktion der Leptinproduktion (Wabitsch et al. 1997, De Pergola et al. 2000) nachgewiesen werden. Während ein hemmender Einfluss des Testosterons auf die Leptinproduktion der Adipozyten belegt ist, wird der Einfluss der Östrogene unterschiedlich beurteilt. Es existieren sowohl Studien, die einen Einfluss der Östrogene sehen (Nader et al. 1997), als auch Studien, die das Gegenteil zeigen (Hardie et al. 1997).

Leptin stimuliert bei Ratten die zentrale Freisetzung von LH und FSH aus der Hypophyse (Yu et al. 1997). Im Gegensatz zu den zentral stimulierenden Effekten scheint die periphere Leptinwirkung auf die Steroidsynthese eher inhibierend zu sein. In vitro Studien zeigen eine Suppression der Östradiol- (Zachow et al. 1997) und Progesteronproduktion (Spicer et al. 1998) der Ovarien durch Leptin. Da diese Daten aus unterschiedlichen Studienarten stammen (in vivo und in vitro), die zusätzlich noch gegensätzliche Effekte zeigen und bisher noch nicht geklärt ist, welcher Effekt beim Menschen vorherrscht, bietet sich an dieser Stelle ein interessanter Ansatzpunkt für weitere Studien.

Interessanterweise zeigte sich eine signifikant ($p < 0,01$) erhöhte Leptinkonzentration in der Probandengruppe, die seit mindestens sechs Monaten mit Thiazolidinedione behandelt wurde. Allerdings wies diese Studiengruppe auch einen deutlich erhöhten durchschnittlichen BMI von $33,2 \pm 6,1 \text{ kg/m}^2$ auf. Außerdem befanden sich in dieser kleinen Gruppe auch überwiegend weibliche Probanden (acht von dreizehn Probanden), so dass eine Erklärung für die gefundene Signifikanz in dem erhöhten Frauenanteil in dieser Gruppe zu suchen ist.

Für die oralen hypoglykämisch wirkenden Medikamente Metformin und Sulfonylharnstoff findet man unterschiedliche Beeinflussungen der Leptinkonzentration. Während Metformin zu einer leichten, nicht signifikanten, Erhöhung der Leptinkonzentration führt, zeigt sich für den Sulfonylharnstoff eine leichte, ebenfalls nicht signifikante Abnahme der Leptinkonzentration (Guler et al. 2000).

Zur besseren Beurteilung des Einflusses der Thiazolidinedione auf die Leptinkonzentration sind jedoch Studien in Form von kontrollierten klinischen Therapiestudien erforderlich. In diesen Studien sollte dann nicht nur der Verlauf der Leptinkonzentration über die Zeit beobachtet, sondern auch der Einfluss der Rosiglitazone auf die Leptinkonzentration im Vergleich zu einer Placebo therapierten Vergleichsgruppe verifiziert werden.

Die Leptinkonzentration ist erhöht bei Probanden mit nachgewiesener Insulinresistenz (Segal et al. 1996). Bei Nachkommen von Typ 2 Diabetikern existiert dieser Zusammenhang allerdings nicht (Kellerer et al. 1996). Neben Leptin gilt auch Resistin als Hormon, dass zu einer Insulinresistenz führt. Anhand der in dieser Arbeit ermittelten Daten zeigt sich kein Hinweis auf eine synergistische Wirkung beider Hormone in der Pathogenese der Insulinresistenz.

Während zu Beginn des Jahres 2001 durch die Ergebnisse von Stepan et al. der Durchbruch bei der Entschlüsselung der Pathogenese des Diabetes mellitus gefeiert wurde, so bestehen heute, nicht zuletzt durch diese Arbeit und durch die Arbeit von Janke et al. (2002), berechtigte Zweifel, dass man die anhand von Tiermodellen gewonnenen Daten auf den Menschen übertragen kann.

Die inzwischen ermittelten Daten für Resistin bei Menschen ähneln denen des TNF- α , einem weiteren Zytokin, das in Monozyten und im Fettgewebe exprimiert wird (Hotamisligil 1995). TNF- α verbessert bei Tieren ebenfalls die Insulinresistenz (Hotamisligil 1993), während sein Einfluss auf Insulinresistenz und Adipositas bei Menschen nur äußerst gering ist (Ofei 1996).

Viele Fragen im Resistin- und Leptinstoffwechsel, sowie in der Interaktion dieser beiden Hormone mit den übrigen am Glucosestoffwechsel beteiligten Hormonen konnten bisher nicht sicher geklärt werden. Die Daten dieser Arbeit zeigen, dass Leptin wohl eine Rolle bei der Pathogenese des Diabetes mellitus spielt, während eine Beteiligung von Resistin in der Pathogenese der Insulinresistenz eher als gering einzuschätzen ist. Trotz dieser Erkenntnisse bleibt es in Zukunft unerlässlich, weitere Studien mit großen Patientenkollektiven durchzuführen, um die Entstehung eines Diabetes mellitus und einer Insulinresistenz besser verstehen zu können.

5 Zusammenfassung

Resistin ist ein kürzlich entdecktes Hormon, welches exklusiv im Fettgewebe synthetisiert wird. Die Synthese dieses Hormons ist supprimiert bei genetisch oder diätisch induzierter Adipositas im Tiermodell. Die Gabe von Resistin führt zu einer verschlechterten Glucosetoleranz und zu verminderter Insulinwirkung.

Aufgrund dieser Erkenntnisse lag die Vermutung nahe, dass Resistin eine entscheidende Rolle in der Entwicklung eines Diabetes mellitus Typ 2 und Adipositas spielen könnte.

Ein weiteres Hormon, Leptin, wird ebenfalls immer wieder in den Zusammenhang mit der Entstehung einer zunehmenden Insulinresistenz und Adipositas gebracht.

Die vorliegende Arbeit versucht daher einen Beitrag zur Aufklärung dieser Zusammenhänge zu leisten. Aus diesem Grund wurde das Blutplasma von 76 stoffwechselgesunden Probanden, von 43 Typ 1 Diabetikern und von 75 Typ 2 Diabetikern im Hinblick auf die Konzentration von Resistin, Leptin, Blutzucker, Cholesterin und Triglyceride untersucht.

Dabei wurde Resistin erstmals im Blutplasma gemessen. Stoffwechselgesunde Probanden hatten eine durchschnittliche Resistinplasmakonzentration von $38,8 \pm 7,9$ ng/ml. Dabei zeigte sich keine Abhängigkeit zur Höhe des BMI. Die Resistinplasmakonzentration der Probanden mit Diabetes mellitus Typ 1 betrug durchschnittlich $39,4 \pm 7,2$ ng/ml, die der Probanden mit Diabetes mellitus Typ 2 durchschnittlich $38,7 \pm 8,4$ ng/ml. Damit ergaben sich weder zwischen den untersuchten Studiengruppen, noch zwischen den männlichen und weiblichen Probanden statistische signifikante Unterschiede bezüglich der Höhe der Resistinplasmakonzentration.

Die Leptinplasmakonzentration betrug durchschnittlich $19,8 \pm 19,5$ ng/ml in der Gruppe der stoffwechselgesunden Probanden. Für die Typ 2 Diabetiker konnte eine durchschnittliche Konzentration von $25,1 \pm 21,7$ ng/ml und für die Typ 1 Diabetiker von $12,9 \pm 18,7$ ng/ml ermittelt werden. Dabei war die Höhe der

Leptinkonzentration unabhängig vom Vorhandensein eines Diabetes mellitus Typ 2 ($p=0,11$).

Neben der starken Abhängigkeit zwischen Leptinplasmakonzentration und BMI zeigten sich außerdem noch geschlechtsspezifische Unterschiede. So lag die durchschnittliche Leptinplasmakonzentration der weiblichen Probandinnen statistisch signifikant höher als die der männlichen Probanden ($p<0,01$).

Die gemessene Plasmakonzentration für Resistin und Leptin korrelieren nicht miteinander. Im Gegensatz zu den für Resistin gefundenen Ergebnissen zeigte sich für Leptin ein Zusammenhang zwischen der Höhe der Plasmakonzentration und dem Ausmaß der Adipositas.

Die neu gewonnen Erkenntnisse über die Plasmakonzentrationen von Resistin und Leptin bei Diabetikern und Stoffwechselgesunden konnten den im Tiermodell gefundenen Zusammenhang zwischen Resistin und Diabetes mellitus, bzw. Insulinresistenz, nicht bestätigen. Weitere Studien sind nötig, um den Pathomechanismus des Diabetes mellitus besser zu verstehen und um somit möglicherweise neue therapeutischer Ansätze und Strategien zur Behandlung zu entwickeln.

Teile dieser Arbeit sind in Hormone and Metabolic Research publiziert worden:

Fehmann HC, Heyn J „Plasma resistin levels in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus and in healthy controls.“ Hormone and Metabolic Research 34 (2002): 671-673.

6 Literaturverzeichnis

- Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos-Flier E, Flier JS „Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting.“ *Nature* (1996): 250-252
- Bado A, Levasseur S, Attoub S, Kermorgant S, Laigneau JP, Bortoluzzi MN, Moizo L “The stomach is a source of leptin.“ *Nature* 394 (1998): 790-793
- Banerjee R, Lazar MA “Dimerization of resistin and resistin-like molecules is determined by a single cysteine.” *The Journal of Biological Chemistry* 276 (2001): 25970-25973
- Banks WA, Kastin AJ, Huang W, Jaspan JB, Mannes LM “Leptin enters the brain by a saturable system independent of insulin.” *Peptides* 17 (1996): 305-311
- Bortz J “Statistik“ Springer-Verlag, 4. Auflage, Berlin (1993): 261-263
- Bluher M, Kratzsch J, Paschke R “Plasma levels of tumor necrosis factor- α , angiotensin II, growth hormone, and IGF-I are not elevated in insulin-resistant obese individuals with impaired glucose tolerance.” *Diabetes Care* 24 (2001): 328-334
- Cappiello V, Ronchi C, Morpurgo PS, Epaminonda P, Arosio M, Beck-Peccoz P, Spada A “Circulating ghrelin levels in basal conditions and during glucose tolerance test in acromegalic patients.” *European Journal of Endocrinology* 147 (2002): 189-194
- Caro JF, Kolaczynski JW, Nyce MR, Ohannesian JP, Opentanova I, Goldman WH, Lynn RB “Decreased cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance.” *Lancet* 348 (1996): 159-161
- Carnevali JB, Siloto RM, Ignacchitti I, Brenelli SL, Carnevali CR, Leite A, Velloso LA “Insulin modulates leptin-induced STAT3 activation in rat hypothalamus.” *FEBS-Letters* 500 (2001): 119-124

- Chen H, Charlat O, Tartaglia LA, Woolf EA, Weng X, Ellis SJ, Lackey ND "Evidence that the diabetes gene encodes the leptin receptor: identification of a mutation in the leptin receptor gene in db/db mice." *Cell* 84 (1996): 491-495
- Chen NG, Swick AG, Romsos DR "Leptin constrains acetylcholin-induced insulin secretion from pancreatic islets of ob/ob mice." *Journal of Clinical Investigation* 100 (1997): 1174-1179
- Chen NG, Romsos DR "Persistently enhanced sensitivity of pancreatic islets from ob/ob mice to PKC-stimulated insulin secretion." *American Journal of Physiology* 272 (1997): E304-E311
- Chinookoswong N, Wang JL, Shi ZQ "Leptin restores euglycemia and normalizes glucose turnover in insulin-deficient diabetes in the rat." *Diabetes* 48 (1999): 1487-1492
- Claycombe KJ, Wang Y, Jones BH, Kim S, Wilkison WO, Zemel MB, Chun J "Transcriptional regulation of the adipocyte fatty acid synthase gene by agouti: interaction with insulin." *Physiol Genomics* 3 (2000): 157-162
- Clément K, Lahlou N, Ruiz J, Hager J, Bougneres P, Basdevant A, Guy-Grand B "Association of poorly controlled diabetes with low serum leptin in morbid obesity" *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders* 21 (1997): 556-561
- Clément K, Vaisse C, Lahlou N, Cabrol S, Pelloux V, Cassuto D, Gormelen M "A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction." *Nature* 392 (1998): 398-401
- Cohen B, Novick D, Rubinstein M "Modulation of insulin activities by leptin." *Science* 274 (1996): 1185-1188
- Coleman DL "Obese and diabetes: two mutant genes causing diabetes-obesity syndrom in mice." *Diabetologia* 14 (1978): 141-148

- Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP "Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans." *New England Journal of Medicine* 334 (1996): 292-295
- Considine RV, Considine EL, Williams CJ, Hyde TM, Caro JF "The hypothalamic leptin receptor in humans: identification of incidental sequence polymorphisms and absence of the db/db mouse and fa/fa rat mutations." *Diabetes* 45 (1996): 992-994
- Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS "A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggest a role in meal initiation in humans." *Diabetes* 50 (2001): 1714-1719
- Cummings DE, Weigle DS, Frayo RS, Breen PA, Ma MK, Dellinger EP "Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery." *New England Journal of Medicine* 346 (2002): 1623-1630
- Cusin I, Zakrzewska KE, Boss O, Muzzin P, Giacobino JP, Ricquier D, Jeanrenaud B "Chronic central leptin infusion enhances insulin-stimulated glucose metabolism and favors the expression of uncoupling proteins." *Diabetes* 47 (1998): 1014-1019
- Dall'Aglia E, Chang H, Hollenbeck CB, Mondon CE, Sims C, Reaven GM "In vivo and in vitro resistance to maximal insulin stimulated glucose disposal in insulin deficiency." *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism* 249 (1985): E312-E316
- Darnell JE Jr., Kerr IM, Stark GR "Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins." *Science* 264 (1994): 1415-1421
- Daughaday WH "Pituitary gigantism." *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* 21 (1992): 633-647
- DeFronzo RA, Bonadonna RC, Ferrannini E "Pathogenesis of NIDDM: A balanced overview." *Diabetes care* 15 (1992): 318-368

- Delhanty PJ, Mesotten D, McDougall F, Baxter RC "Growth hormone rapidly induces resistin gene expression in white adipose tissue of spontaneous dwarf (SDR) rats." *Endocrinology* 143 (2002): 2445-2448
- De Pergola G "The adipose tissue metabolism: role of testosterone and dehydroepiandrosterone." *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders* 24 (2000): S59-S63
- Efendic S, Ostenson CG "Hormonal responses and future treatment of non-insulin-dependent diabetes mellitus (NIDDM)." *Journal of internal medicine* 234 (1993): 127-138
- Emilsson V, Liu YL, Cawthorne MA, Morton NM, Davenport M "Expression of the functional leptin receptor mRNA in pancreatic islets and direct inhibitory action of leptin on insulin secretion." *Diabetes* 46 (1997): 313-316
- Farooqi IS, Jebb SA, Langmack G, Lawrence E, Cheetham CH, Prentice AM, Hughes IA "Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency." *New England Journal of Medicine* 341 (1999): 879-884
- Fasshauer M, Klein J, Neumann S, Eszlinger M, Paschke R "Hormonal regulation of adiponectin gene expression in 3T3-L1 adipocytes." *Biochemical and Biophysical Research Communications* 290 (2002): 1084-1089
- Fasshauer M, Klein J, Neumann S, Eszlinger M, Paschke R "Isoproterenol inhibits resistin gene expression through a G(S)-protein-coupled pathway in 3T3-L1 adipocytes." *FEBS Letters* 500 (2001): 60-63
- Fasshauer M, Klein J, Neumann S, Eszlinger M, Paschke R "Tumor necrosis factor alpha is a negative regulator of resistin gene expression and secretion in 3T3-L1 adipocytes." *Biochemical and Biophysical Communications* 288 (2001): 1027-1031

- Fehmann HC, Berghofer P, Brandhorst D, Brandhorst H, Hering B, Bretzel RG, Goke B "Leptin inhibition of insulin secretion from human isolated islets." *Acta Diabetologica* 34 (1997): 249-252
- Fehmann HC, Peiser C, Bode HP, Stamm M, Staats P, Hedetoft C, Lang RE "Leptin: a potent inhibitor of insulin secretion." *Peptides* 18 (1997): 1267-1273
- Fei H, Okano HJ, Li C, Lee GH, Zhao C, Darnell R, Friedmann JM "Anatomic localization of alternatively spliced leptin receptors (Ob-R) in mouse brain and other tissues." *Proceedings of the National Academie of Science of the USA* 94 (1997): 7001-7005
- Friedman JM, Leibel RL "Tackling a weighty problem." *Cell* 69 (1992): 217-220
- Friedman JM "The alphabet of weight control." *Nature* 385 (1997): 119-120
- Fukui Y, Motojima K "Expression of resistin in the adipose tissue is modulated by various factors including peroxisome proliferator-activated receptor alpha." *Diabetes, Obesity and Metabolism* 4 (2002): 342-345
- Gardner JD, Rothwell NJ, Luheshi GN "Leptin affects food intake via CRF-receptor-mediated pathways." *Nature Neuroscience* 1 (1998): 103
- Gearing DP, Thut CJ, VandeBos T, Gimpel SD, Delaney PB, King J, Price V "Leukemia inhibitory factor receptor is structurally related to the IL-6 signal transducer, gp 130." *EMBO Journal* 10 (1991): 2839-2848
- Geriche JE "The genetic basis of type 2 diabetes mellitus: impaired insulin secretion versus impaired insulin sensitivity." *Endocrine reviews* 19 (1998): 491-503
- Ghilardi N, Ziegler S, Wiestner A, Stoffel R, Heim H, Skoda RC "Defective STAT signaling by the leptin receptor in diabetic mice." *Proceedings of the National Academie of Science of the USA* 93 (1996): 6231-6235

- Guler S, Cakir B, Demirbas B, Gursoy G, Serter R, Aral Y "Leptin concentrations are related to glycaemic control, but do not change with short-term oral antidiabetic therapy in female patients with type 2 diabetes mellitus" *Diabetes, Obesity and Metabolism* 2 (2000): 313-316
- Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, Cohen SL, Chait BT, Rabinowitz D, Lallone RL "Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene." *Science* 269 (1995): 543-546
- Hardie LJ, Guilhot N, Trayhurn P "Regulation of leptin production in cultured mature white adipocytes." *Hormone and Metabolic Research* 28 (1996): 685-689
- Hardie L, Trayhurn P, Abramovich D, Fowler P "Circulating leptin in women: a longitudinal study in the menstrual cycle and during pregnancy." *Clinical Endocrinology* 47 (1997): 101-106
- Harvey J, McKenna F, Herson PS, Spanswick D, Ashford ML "Leptin activates ATP-sensitive potassium channels in the rat insulin-secreting cell line, CRI-G1." *Journal of Physiology* 504 (1997): 527-535
- Haugen F, Jorgensen A, Drevon CA, Trayhurn P "Inhibition by insulin of resistin gene expression in 3T3-L1 adipocytes." *FEBS-Letters* 507 (2001): 105-108
- Havel PJ, Uriu-Hare JY, Liu T, Stanhope KL, Stern JS, Keen CL, Ahren B "Marked and rapid decreases of circulating leptin in streptozotocin diabetic rats: reversal by insulin." *American Journal of Physiology* 274 (1998): R1482-R1491
- Haque WA, Shimomura I, Matsuzawa Y, Garg A "Serum adiponectin and leptin levels in patients with lipodystrophies." *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 87 (2002): 2395-2398
- Holcomb IN, Kabakoff RC, Chan B, Baker TW, Gurney A, Henzel W, Nelson C "FIZZ1, a novel cysteine-rich secreted protein associated with pulmonary inflammation, defines a new gene family." *EMBO Journal* 19 (2000): 4046-4055

- Hotamisligil GS "Molecular mechanisms of insulin resistance and the role of the adipocyte." *International Journal of Obesity and related metabolic Disorders* 24 (2000): S23-S27.
- Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM "Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance." *Journal of Clinical Investigation* 95 (1995): 2409-2415
- Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM "Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance." *Science* 259 (1993): 87-91
- Hotta K, Funahashi T; Arita Y, Takahashi M, Matsuda M, Okamoto Y, Iwahashi H "Plasma concentrations of a novel, adipose-specific protein, adiponectin, in type 2 diabetic patients." *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* 20 (2000): 1595-1599
- Hussain MA, Schmitz O, Mengel A, Glatz Y, Christiansen JS, Zapf J, Froesch ER "Comparison of the effects of growth hormone and insulin-like growth factor 1 on substrate oxidation and on insulin sensitivity in growth hormone-deficient humans." *Journal of Clinical Investigation* 94 (1994): 1126-1133
- Ihle JN "Cytokine receptor signalling." *Nature* 377 (1995): 591-594
- Ihle JN "STATs: signal transducers and activators of transcription." *Cell* 84 (1996): 331-334
- Janke J, Engeli S, Gorzelniak K, Luft FC, Sharma AM "Resistin gene expression in human adipocytes is not related to insulin resistance." *Obese Research* 10 (2002):1-5
- Juan CC, Au LC, Fang VS, Kang SF, Ko YH, Kuo SF, Hsu YP "Suppressed gene expression of adipocyte resistin in an insulin-resistant rat model probably by elevated free fatty acids." *Biochemical and Biophysical Research Communications* 289 (2001): 1328-1333

- Kawashima J, Tsuruzoe K, Motoshima H, Shirakami A, Sakai K, Hirashima T, Toyonaga T "Insulin down-regulates resistin mRNA Through the synthesis of protein(s) that could accelerate the degradation of resistin mRNA in 3T3-L1 adipocytes." *Diabetes* 46 (2003): 231-240
- Kelllerer M, Rett K, Renn W, Groop L, Haring HU "Circulating TNF-alpha and leptin levels in offspring of NIDDM patients do not correlate to individual insulin sensitivity." *Hormone and Metabolic Research* 28 (1996): 737-743
- Kennedy A, Gettys TW, Watson P, Wallace P, Ganaway E, Pan Q "The metabolic significance of leptin in humans: gender-based differences in relationship to adiposity, insulin sensitivity, and energy expenditure." *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 82 (1997): 1293-1300
- Kern PA, Ranganathan S, Li C, Wood L, Ranganathan G "Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance." *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism* 82 (2001): E745-E751
- Kim KH, Lee K, Monn YS, Sul HS "A cysteine-rich adipose tissue-specific secretory factor inhibits adipocyte differentiation." *Journal of Biological Chemistry* 276 (2001): 11252-11256
- Kim YB, Uotani S, Pierroz DD, Flier JS, Kahn BB "In vivo administration of leptin activates signal transduction directly in insulin-sensitive tissue: overlapping but distinct pathways from insulin." *Endocrinology* 141 (2000): 2328-2339
- Klebig ML, Wilkinson JE, Geisler JG, Woychik RP "Ectopic expression of the agouti gene in transgenic mice causes obesity, features of type II diabetes, and yellow fur." *Proceedings of the National Academy of Science of the USA* 92 (1995): 4728-4732

- Köhler W, Schachtel G, Voleske P "Biostatistik" Springer-Verlag, 2. Auflage, Berlin (1995): 47-100
- Koistinen HA, Bastard JP, Dussere E, Ebeling P, Zegari N, Andreelli F, Jardel C "Subcutaneous adipose tissue expression of tumor necrosis factor-alpha is not assoziated with whole body insulin resistance in obese nondiabetic or in type-2 diabetic subjects." European Journal of Clinical Investigations 95 (2000): 302-310
- Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K "Ghrelin is a growth-hormone-realising acylated peptide from stomach." Nature 402 (1999): 656-660
- Korbonits M, Trainer PJ, Little JA, Edwards R, Kopelman PG, Besser GM, Svec F "Leptin levels do not change acutely with food administration in normal or obese subjects, but are negatively correlated with pituitary-adrenal activity." Clinical Endocrinology 46 (1997): 751-757
- Kostalova L, Lesková L, Kapellerová A, Strbák V "Body mass, plasma leptin, glucose, insulin and c-peptide in offspring of diabetic and non-diabetic mothers" European Journal of Endocrinology 145 (2001): 53-58
- Kristensen P, Judge ME, Thim L, Ribel U, Christjansen KN, Wulff BS, Clausen JT "Hypothalamic CART is a new anorectic peptide regulated by leptin." Nature 393 (1998): 72-76
- Kwon HY, Bultman SJ, Löffler C, Chen WJ, Furdon PJ, Powel JG, Usala AL "Molecular structure and chromosomal mapping of the human homolog of the agouti gene." Proceedings of the National Academie of Science of the USA 91 (1994): 9760-9764
- Lander ES, Schork NJ "Genetic dissection of complex traits." Science 265 (1994): 2037-2048

- Larsen A, Davis T, Curtis BM, Gimpel S, Sims JE, Cosman D, Park L "Expression cloning of a human granulocyte colony-stimulating factor receptor: a structural mosaic of hematopoietan receptor, immunoglobulin and fibronectin domains." *Journal of Experimental Medicine* 172 (1990): 1559-1570
- Lee GH, Proenca R, Montez JM, Carroll KM, Darvishzadeh JG, Lee JI, Friedman JM "Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice." *Nature* 379 (1996): 632-635
- Le Lay S, Boucher J, Rey A, Castan-Laurell I, Krief S, Ferre P, Valet P, Dugail I "Decreased resistin expression in mice with different sensitivities to a high fat diet." *Biochemical Biophysical Research Communications* 289 (2001): 564-567
- Leslie RD, Atkinson MA, Notkins AL "Autoantigens IA-2 and GAD in Type 1 (insulin-dependent) diabetes." *Diabetologia* 42 (1999): 3-14
- Levy JR, Davenport B, Clore JN, Stevens W "Lipid metabolism and resistin gene expression in insulin-resistant Fischer 344 rats." *American Journal of Endocrinology and metabolism* 282 (2002) E626-633
- Li C, Joffe E, Fidahusein N, Connolly E, Friedman JM "Absence of soluble leptin receptor in plasma from dbPas/dbPas and other db/db mice." *Journal Biological Chemistry* 273 (1998): 10078-10082
- Licinio J, Mantzoros C, Negrao AB, Cizza GG, Wong ML, Bongiorno PB, Chrousos GP "Human leptin levels are pulsatile and inversely related to pituitary-adrenal function." *Nature Medicine* 3 (1997): 575-579
- Lindmann HR "Analysis of variance in complex experimental designs." W.H. Freeman & Co, San Francisco (1974): 43-78
- Ling C, Kindblom J, Wennbo H, Billig H "Increased resistin expression in the adipose tissue of male prolactin transgenic mice and in male mice with elevated androgen levels." *FEBS-Letters* 507 (2001): 147-150

- Liu L, Karkanias GB, Morales JC, Hawkins M, Barzilai N, Wang J, Rosetti L "Intracerebroventricular leptin regulates hepatic but not peripheral glucose fluxes." *Journal of Biological Chemistry* 273 (1998): 31160-31167
- Lord GM, Maturase G, Howard JK, Baker RJ, Bloom SR, Lechler RI "Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression." *Nature* 394 (1998): 897-901
- Maffei M, Halaas J, Ravussin E, Pratley RE, Lee GH, Zhang Y, Fei H, Kim S "Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects." *Nature Medicine* 1 (1995): 1155-1161
- Maffei M, Stoffel M; Barone M, Moon B, Dammernan M, Ravussin E, Bogardus C, Ludwig DS "Absence of mutations in the human ob gene in obese/diabetic subjects." *Diabetes* 45 (1996): 679-682
- Masuzaki H, Ogawa Y, Sagawa N, Hosoda K, Matsumoto T, Mise H, Nishimura H "Nonadipose tissue production of leptin: leptin as a novel placenta-derived hormone in humans." *Nature Med.* 3 (1997): 1029-1033
- Matson CA, Wiater MF, Kuijper JL, Weigle DS "Synergy between leptin and cholecystokinin (CCK) to control daily caloric intake." *Peptides* 18 (1997): 1275-1278
- Mercer JG, Hoggard N, Williams LM, Lawrence CB, Hannah LT, Trayhurn P "Localization of leptin receptor mRNA and the long form splice variant (Ob-Rb) in mouse hypothalamus and adjacent brain regions by in situ hybridization." *FEBS-Letters* 387 (1996): 113-116
- McTernan CL, McTernan PG, Harte AL, Levick PL, Barnett AH, Kumar S "Resistin, central obesity, and type 2 diabetes." *Lancet* 359 (2002):46-47
- Morton NM, Emilsson V, Liu YI, Cawthorne MA "Leptin action in intestinal cells." *Journal of Biological Chemistry* 273 (1998): 26194-26201

- Morton NM, Emilsson V, de Groot P, Pallett AL, Cawthorne MA "Leptin signalling in pancreatic islets and clonal insulin-secreting cells." *Journal of Molecular Endocrinology* 22 (1999): 173-184
- Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP, Soos MA, Rau H, Wareham NJ, Sewter CP, Digby JE "Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans." *Nature* 387 (1997): 903-908
- Myers MG Jr., White MF "Insulin signal transduction and the IRS proteins." *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 36 (1996): 615-658
- Nagaev I, Smith U "Insulin resistance and type 2 diabetes are not related to resistin expression in human fat cells or skeletal muscle." *Biochemical and Biophysical Research Communications* 285 (2001): 561-564
- Nagasaka S, Ishikawa S, Nakamura T, Kawakami A, Rokkaku K, Hayashi H, Kusaka I "Association of endogenous insulin secretion and mode of therapy with body fat and serum leptin levels in diabetic subjects." *Metabolism* 47 (1998): 1391-1396
- Nakazato M, Murakami N, Date Y, Kojima M, Matusuo, Kangawa K, Matsukura S "A role for ghrelin in the central regulation of feeding." *Nature* 409 (2001): 194-198
- Nader S, Riad-Gabriel MG, Saad MF "The effect of a desogestrel-containing oral contraceptive on glucose tolerance and leptin concentrations in hyperandrogenic women." *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 82 (1997): 3074-3077
- Ofei F, Hurel S, Newkirk J, Sopwith M, Taylor R "Effects on an engineered human anti-TNF-alpha antibody (CDP571) on insulin sensitivity and glycemic control in patients with NIDDM." *Diabetes* 45 (1996): 881-885
- Ohki-Hamazaki H, Watase K, Yamamoto K, Ogura H, Yamono M "Mice lacking bombesin receptor subtype-3 develop metabolic defects and obesity." *Nature* 390 (1997): 165-169

- Ookuma M, Ookuma K, York DA "Effects of leptin on insulin secretion from isolated rat pancreatic islets." *Diabetes* 47 (1998): 219-223
- Osawa H, Onuma H, Murakami A, Ochi M, Nishimiya T, Kato K Shimizu I, Fujii Y "Systematic search for single nucleotide polymorphisms in the resistin gene: the absence of evidence of the association of three identified single nucleotid polymorphisms with japanese type 2 diabetes." *Diabetes* 51 (2002): 863-866
- Ostlund RE Jr., Yang JW, Klein S Gingerich R "Relation between plasma leptin concentration and body fat, gender, diet, age and metabolic covariates." *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 81 (1996): 3909-3913
- Ozata M, Ozdemir IC, Licinio J "Human leptin deficiency caused by a missed mutation: multiple endocrine defects, decreased sympathetic tone, and immune system dysfunction indicate new targets for leptin actions, greater central than peripheral resistance to the effects of leptin, and spontaneous correction of leptin-mediated defects." *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 84 (1999) 3686-3695
- Pallett AL, Morton NM, Cawthorne MA, Emilsson V "Leptin inhibits insulin secretion and reduces insulin mRNA levels in isolated pancreatic islets." *Biochemical and Biophysical Research Communications* 238 (1997): 267-270
- Passaro A, Calzoni F, Zamboni PF, Manservigi D, Alberti L, Dalla Nora E, Fellini R "Role of diabetes in influencing leptin concentration in elderly overweight patients." *European Journal of Endocrinology* 145 (2001): 173-179
- Petersen KF, Oral EA, Dufour S, Befroy D, Ariyan C, Yu C, Cline GW "Leptin reverses insulin resistance and hepatic steatosis in patients with severe lipodystrophy." *The Journal of Clinical Investigation* 109 (2002): 1345-1350

- Poitout V, Rouault C, Guerre-Millo M, Briaud I, Reach G "Inhibition of insulin secretion by leptin in normal rodent islets of Langerhans." *Endocrinology* 139 (1998): 822-826
- Qu D, Ludwig DS, Gammeltoft S, Piper M, Pelleymounter MA, Cullen MS, Mathes EF "A role for melanin-concentrating hormone in the central regulation of feeding behavior." *Nature* 380 (1996): 243-247
- Rajala MW, Obici S, Scherer PE, Rossetti L "Adipose-derived resistin and gut-derived resistin-like molecule-beta selectively impair insulin action on glucose production." *Journal of Clinical Investigation* 111 (2003): 225-230
- Reaven GM "Pathophysiology of insulin resistance in human disease." *Physiological review* 75 (1995): 473-486
- Rentsch J, Chiesi M "Regulation of ob gene mRNA levels in cultured adipocytes." *FEBS Letter* 379 (1996): 55-59
- Rolland V, Clément K, Dugail I, Guy-Grand B, Basdevant A, Froguel P, Lavan M "Leptin receptor gene in a large cohort of massively obese subjects: no indication of the fa/fa rat mutation. Detection of an intronic variant with no association with obesity." *Obesity Research* 6 (1998): 122-127
- Rossetti L, Massillon D, Barzilai N, Vuguin P, Chen W, Hawkins M, Wu J "Short term effects of leptin on hepatic gluconeogenesis and in vivo insulin action." *Journal of Biological Chemistry* 272 (1997): 27758-27763
- Sachs Lothar, *Angewandte Statistik*, Springer Verlag Berlin, 8. Auflage (1997): 184-185
- Sakurai T, Amemiya A, Ishii M, Matsuzaki I, Chemelli RM, Tanaka H, Williams SC "Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior." *Cell* 92 (1998): 573-585

- Satoh N, Ogawa Y, Katsuura G, Numata Y, Masuzaki H, Yoshimasa Y, Nakao K "Satiety effect and symphathetic activation of leptin are mediated by hypothalamic melanocortin system." *Neuroscience Letters* 249 (1998): 107-110.
- Savage DB, Sewter CP, Klenk ES, Segal DG, Vidal-Puig A, Considine RW, O'Rahilly S "Resistin/FIZZ3 expression in relation to obesity and peroxysome proliferator-activated receptor-gamma action in humans." *Diabetes* 50 (2001): 2199-2202
- Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF "A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes." *The Journal of Biological Chemistry* 270 (1995): 26746- 26749
- Schwartz MW, Peskind E, Raskind M, Boyko EJ, Porte D "Cerebrospinal fluid leptin levels: relationship to plasma levels and to adiposity in humans." *Nature Medicine* 2 (1996): 589-593
- Shi ZQ, Nelson A, Whitcomb L, Wang J, Cohern AM "Intracerebroventricular administration of leptin markedly enhances insulin sensitivity and systemic glucose utilization in conscious rats." *Metabolism* 47 (1998): 1274-1280
- Segal KR, Landt M, Klein S "Relationship between insulin sensitivity and plasma leptin concentration in lean and obese men." *Diabetes* 45 (1996): 988-991
- Sentinellie F, Romeo S, Arca M, Filippi M, Leonetti F, Banchieri M, Di Mario U "Human resistin gene, obesità, and type 2 diabetes: mutation analysis and population study." *Diabetes* 51 (2002): 860-862
- Seufert J, Kieffer TJ, Leech CA, Holz GG, Moritz W, Ricordi C, Habener JF "Leptin suppression of insulin secretion and gene expression in human pancreatic islets: implications for the development of adipogenic diabetes mellitus." *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 84 (1999): 670-676

- Shojima N, Sakoda H, Ogihara T, Fujishiro M, Katagiri H, Anai M, Onishi Y "Humoral regulation of resistin expression in 3T3-L1 and mouse adipose cells." *Diabetes* 51 (2002): 1737-1744
- Siegrist-Kaiser CA, Pauli V, Juge-Aubry CE, Boss O, Pernin A, Chin WW, Cusin I "Direct effects of leptin on brown and white adipose tissue." *Proceedings of the National Academie of Science of the USA* 94 (1997): 2858-2864
- Sierra-Honigmann MR, Nath AK, Murahami C, Garcia-Cardena G, Papapetropoulos A "Biologic action of leptin as an angiogenic factor." *Science* 281 (1998): 1683-1686
- Sinha MK, Opentanova I, Ohannesian JP, Kolaczynski JW, Heiman ML, Hale J, Becker GW "Evidence of free and bound leptin in human circulation. Studies in lean and obese subjects and during short-term fasting." *Journal of Clinical Investigation* 98 (1996): 1277-1282
- Spicer LJ, Francisco CC "The adipose obese gene product, leptin: evidence of a direct inhibitory role in ovarian function." *Endocrinology* 138 (1997): 3374-3379
- Stephens TW, Basinski M, Bristow PK, Bue-Valleskey JM, Burgett SG "The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the obese gene product." *Nature* 377 (1995): 530-532
- Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR "The hormone resistin links obesity to diabetes." *Nature* 409 (2001): 307-312
- Steppan CM, Brown EJ, Wright CM, Bhat S, Banerjee R "A family of tissue-specific resistin-like molecules." *Proceedings of the National Academie of Science of the USA* 98 (2001): 502-506
- Strobel A, Issad T, Camoin L, Ozata M, Strosberg AD "A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity." *Nature Genetics* 18 (1998): 213-215

- Stunkard AJ, Harris JR, Pedersen NL, McClearn GE "The body-mass index of twins who have been reared apart." *New England Journal of Medicine* 322 (1990): 1483-1487
- Spiegelman BM "PPAR-gamma: adipogenic regulator and thiazolidinedione receptor." *Diabetes* 47 (1998): 507-514
- Szanto I, Kahn CR "Selective interaction between leptin and insulin signaling pathways in a hepatic cell line." *Proceedings of the National Academie of Science of the USA* 97 (2000): 2355-2360
- Taga T, Hibi M, Hirata J, Yamasaki K, Yasukawa K, Matsuda T, Hirano T "Interleukin-6 triggers the association of its receptor with a possible signal transducer, gp 130." *Cell* 58 (1989): 573-581
- Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R, Richards GJ "Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R." *Cell* 83 (1995): 1263-1271
- Tschop M, Smiley DL, Heiman ML "Ghrelin induces adiposity in rodents." *Nature* 407 (2000): 908-913
- Vaisse C, Halaas JL, Horvarth CM, Darnell JE Jr., Stoffel M, Friedman JM "Leptin activation of Stat3 in the hypothalamus of wild-type and ob/ob mice but not in db/db mice." *Nature Genetics* 14 (1996): 95-97
- Van Heek M, Compton DS, France CF, Tedesco RP, Fawzi AB, Graziano MP, Sybertz EJ "Diet-induced obese mice develop peripheral, but not central, resistance to leptin." *Journal of Clinical Investigation* 99 (1997): 385-390
- Velho G, Froguel P "Genetic, metabolic and clinical characteristics of maturity onset of diabetes of the young." *European Journal of Endocrinology* 138 (1998): 233-239
- Wang JL, Chinookoswong N, Scully S, Qi M, Shi ZQ "Differantial effects of leptin in regulation of tissue glucose utilization in vivo." *Endocrinology* 140 (1999): 2117-2124

- Wabitsch M, Blum WF, Muche R, Braun M, Hube F, Rascher W, Heinze E "Contribution of androgens to the gender difference in leptin production in obese children and adolescents." *The Journal of Clinical Investigation* 100 (1997): 808-813
- Wabitsch M, Jensen PB, Blum WF, Christoffersen CT, Englaro P, Heinze E, Rascher W "Insulin and cortisol promote leptin production in cultured human fat cells." *Diabetes* 45 (1996): 1435-1438
- Wang H, Chu WS, Hemphill C, Elbein SC " Human resistin gene: molecular scanning and evaluation of association with insulin sensitivity and type 2 diabetes in Caucasians." *The Journal of Endocrinology and Metabolism* 87 (2002): 2520-2524
- Wang JL, Chinookoswong N, Scully S, Qi M, Shi ZQ " Differential effects of leptin in regulation of tissue glucose utilization in vivo." *Endocrinology* 140 (1999): 2117-2124
- Way JM, Gorgun CZ, Tong Q, Uysal KT, Brown KK, Harrington WW, Oliver WR Jr. "Adipose tissue resistin expression is severely suppressed in obesity and stimulated by peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists." *Journal of Biological Chemistry* 276 (2001): 25651-25653
- Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE, Tataranni PA "Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: Close association with insulin resistance and hyperinsulinemia." *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 86 (2001): 1930-1935
- Widjaja A, Schurmeyer TH, Von zur Muhlen A, Brabant G "Determinants of serum leptin levels in Cushing's syndrome." *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 83 (1998): 600-603
- Woods SC, Chavez M, Park CR, Riedy C, Kaiyala K, Richardson RD "The evaluation of insulin as a metabolic signal influencing behavior via the brain." *Neuroscience and Biobehavioral Review* 20 (1996): 139-144

- Xue B, Wilkison WO, Mynatt RL, Moustaid N, Goldman M, Zemel MB "The agouti gene product stimulates pancreatic β -cell Ca^{2+} signaling, and insulin release." *Physiological Genomics* 15 (1999): 11-19
- Yannakoulia M, Yiannakouris N, Bluher S, Matalas AL, Klimis-Zacas D, Mantzoros CS "Body fat mass and macronutrient intake in relation to circulating soluble leptin receptor, free leptin index, adiponectin, and resistin concentrations in healthy humans." *The Journal of Endocrinology and Metabolism* 88 (2003): 1730-1736
- Yenush L, White MF "The IRS-signaling system during insulin and cytokine action." *BioEssays* 19 (1997): 491-500
- Yu WH, Kimura M, Walczewska A, Karanth S, McCann SM "Role of leptin in hypothalamic-pituitary function." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 94 (1997): 1023-1028
- Zachow RJ, Magoffin DA "Direct intraovarian effects of leptin: impairment of the synergistic action of insulin-like growth factor-1 on follicle-stimulating hormone-dependent estradiol-17 beta production by rat ovarian granulosa cells." *Endocrinology* 138 (1997): 847-850
- Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM "Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue." *Nature* 372 (1994): 425-432
- Zhao AZ, Bornfeldt KE, Beavo JA "Leptin inhibits insulin secretion by activation of phosphodiesterase 3B." *Journal of Clinical Investigation* 102 (1998) 869-873
- Zhong Q, Lin CY, Clarke KS, Kemppainen RJ, Schwartz DD, Judd RL "Endothelin-1 inhibits resistin secretion in 3T3-L1 adipocytes." *Biochemical and Biophysical Research Communications* 296 (2002): 383-387

7 T-Tabelle

| Freiheits- grade | Signifikanzniveau (bei zweiseitiger Fragestellung) | | | | | | | | |
|---------------------|--|------|------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|
| | 0,5 | 0,25 | 0,1 | 0,05 | 0,025 | 0,02 | 0,01 | 0,002 | 0,001 |
| 1 | 1 | 2,41 | 6,31 | 12,71 | 25,45 | 31,82 | 63,66 | 318,29 | 636,58 |
| 2 | 0,82 | 1,6 | 2,92 | 4,303 | 6,205 | 6,965 | 9,925 | 22,328 | 31,6 |
| 3 | 0,77 | 1,42 | 2,35 | 3,182 | 4,177 | 4,541 | 5,841 | 10,214 | 12,924 |
| 4 | 0,74 | 1,34 | 2,13 | 2,776 | 3,495 | 3,747 | 4,604 | 7,173 | 8,61 |
| 5 | 0,73 | 1,3 | 2,02 | 2,571 | 3,163 | 3,365 | 4,032 | 5,894 | 6,869 |
| 6 | 0,72 | 1,27 | 1,94 | 2,447 | 2,969 | 3,143 | 3,707 | 5,208 | 5,959 |
| 7 | 0,71 | 1,25 | 1,9 | 2,365 | 2,841 | 2,998 | 3,499 | 4,785 | 5,408 |
| 8 | 0,71 | 1,24 | 1,86 | 2,306 | 2,752 | 2,896 | 3,355 | 4,501 | 5,041 |
| 9 | 0,7 | 1,23 | 1,83 | 2,262 | 2,685 | 2,821 | 3,25 | 4,297 | 4,781 |
| 10 | 0,7 | 1,22 | 1,81 | 2,228 | 2,634 | 2,764 | 3,169 | 4,144 | 4,587 |
| 11 | 0,7 | 1,21 | 1,8 | 2,201 | 2,593 | 2,718 | 3,106 | 4,025 | 4,437 |
| 12 | 0,7 | 1,21 | 1,78 | 2,179 | 2,56 | 2,681 | 3,055 | 3,93 | 4,318 |
| 13 | 0,69 | 1,2 | 1,77 | 2,16 | 2,533 | 2,65 | 3,012 | 3,852 | 4,221 |
| 14 | 0,69 | 1,2 | 1,76 | 2,145 | 2,51 | 2,624 | 2,977 | 3,787 | 4,14 |
| 15 | 0,69 | 1,2 | 1,75 | 2,131 | 2,49 | 2,602 | 2,947 | 3,733 | 4,073 |
| 16 | 0,69 | 1,19 | 1,75 | 2,12 | 2,473 | 2,583 | 2,921 | 3,686 | 4,015 |
| 17 | 0,69 | 1,19 | 1,74 | 2,11 | 2,458 | 2,567 | 2,898 | 3,646 | 3,965 |
| 18 | 0,69 | 1,19 | 1,73 | 2,101 | 2,445 | 2,552 | 2,878 | 3,61 | 3,922 |
| 19 | 0,69 | 1,19 | 1,73 | 2,093 | 2,433 | 2,539 | 2,861 | 3,579 | 3,883 |
| 20 | 0,69 | 1,19 | 1,73 | 2,086 | 2,423 | 2,528 | 2,845 | 3,552 | 3,85 |
| 21 | 0,69 | 1,18 | 1,72 | 2,08 | 2,414 | 2,518 | 2,831 | 3,527 | 3,819 |
| 22 | 0,69 | 1,18 | 1,72 | 2,074 | 2,405 | 2,508 | 2,819 | 3,505 | 3,792 |
| 23 | 0,69 | 1,18 | 1,71 | 2,069 | 2,398 | 2,5 | 2,807 | 3,485 | 3,768 |
| 24 | 0,69 | 1,18 | 1,71 | 2,064 | 2,391 | 2,492 | 2,797 | 3,467 | 3,745 |
| 25 | 0,68 | 1,18 | 1,71 | 2,06 | 2,385 | 2,485 | 2,787 | 3,45 | 3,725 |
| 26 | 0,68 | 1,18 | 1,71 | 2,056 | 2,379 | 2,479 | 2,779 | 3,435 | 3,707 |
| 27 | 0,68 | 1,18 | 1,7 | 2,052 | 2,373 | 2,473 | 2,771 | 3,421 | 3,689 |
| 28 | 0,68 | 1,18 | 1,7 | 2,048 | 2,368 | 2,467 | 2,763 | 3,408 | 3,674 |
| 29 | 0,68 | 1,17 | 1,7 | 2,045 | 2,364 | 2,462 | 2,756 | 3,396 | 3,66 |
| 30 | 0,68 | 1,17 | 1,7 | 2,042 | 2,36 | 2,457 | 2,75 | 3,385 | 3,646 |
| 31 | 0,68 | 1,17 | 1,7 | 2,04 | 2,356 | 2,453 | 2,744 | 3,375 | 3,633 |
| 32 | 0,68 | 1,17 | 1,69 | 2,037 | 2,352 | 2,449 | 2,738 | 3,365 | 3,622 |
| 33 | 0,68 | 1,17 | 1,69 | 2,035 | 2,348 | 2,445 | 2,733 | 3,356 | 3,611 |
| 34 | 0,68 | 1,17 | 1,69 | 2,032 | 2,345 | 2,441 | 2,728 | 3,348 | 3,601 |
| 35 | 0,68 | 1,17 | 1,69 | 2,03 | 2,342 | 2,438 | 2,724 | 3,34 | 3,591 |
| 36 | 0,68 | 1,17 | 1,69 | 2,028 | 2,339 | 2,434 | 2,719 | 3,333 | 3,582 |
| 37 | 0,68 | 1,17 | 1,69 | 2,026 | 2,336 | 2,431 | 2,715 | 3,326 | 3,574 |
| 38 | 0,68 | 1,17 | 1,69 | 2,024 | 2,334 | 2,429 | 2,712 | 3,319 | 3,566 |
| 39 | 0,68 | 1,17 | 1,69 | 2,023 | 2,331 | 2,426 | 2,708 | 3,313 | 3,558 |
| 40 | 0,68 | 1,17 | 1,68 | 2,021 | 2,329 | 2,423 | 2,704 | 3,307 | 3,551 |
| 50 | 0,68 | 1,16 | 1,68 | 2,009 | 2,311 | 2,403 | 2,678 | 3,261 | 3,496 |
| 60 | 0,68 | 1,16 | 1,67 | 2 | 2,299 | 2,39 | 2,66 | 3,232 | 3,46 |
| 70 | 0,68 | 1,16 | 1,67 | 1,994 | 2,291 | 2,381 | 2,648 | 3,211 | 3,435 |
| 80 | 0,68 | 1,16 | 1,66 | 1,99 | 2,284 | 2,374 | 2,639 | 3,195 | 3,416 |
| 90 | 0,68 | 1,16 | 1,66 | 1,987 | 2,28 | 2,368 | 2,632 | 3,183 | 3,402 |
| 100 | 0,68 | 1,16 | 1,66 | 1,984 | 2,276 | 2,364 | 2,626 | 3,174 | 3,39 |
| 150 | 0,68 | 1,16 | 1,66 | 1,976 | 2,264 | 2,351 | 2,609 | 3,145 | 3,357 |
| 200 | 0,68 | 1,15 | 1,65 | 1,972 | 2,258 | 2,345 | 2,601 | 3,131 | 3,34 |
| 300 | 0,68 | 1,15 | 1,65 | 1,968 | 2,253 | 2,339 | 2,592 | 3,118 | 3,323 |

8 Abbildungsverzeichnis

| | |
|--|----|
| Abbildung 1.1 Interaktionen von Leptin mit anderen Hormonen in der Gewichtsregulation | 11 |
| Abbildung 1.2 Schematische Darstellung des Leptinrezeptors | 14 |
| Abbildung 2.1 Füllung einer Mikrotiterplatte | 24 |
| Abbildung 3.1 Beziehung der Plasmaleptinkonzentration mit dem BMI bei stoffwechselgesunden Probanden | 30 |
| Abbildung 3.2 Beziehung der Plasmaresistinkonzentration mit dem BMI bei stoffwechselgesunden Probanden | 31 |
| Abbildung 3.3 Beziehung von Resistin und BMI bei stoffwechselgesunden Probanden | 32 |
| Abbildung 3.4 Beziehung der Plasmakonzentration von Resistin und Leptin bei stoffwechselgesunden Probanden | 33 |
| Abbildung 3.5 Beziehung der Plasmaleptinkonzentration mit dem BMI bei Probanden mit Diabetes mellitus Typ 1 | 34 |
| Abbildung 3.6 Beziehung der Plasmaresistinkonzentration mit dem BMI bei Probanden mit Diabetes mellitus Typ 1 | 35 |
| Abbildung 3.7 Beziehung von Resistin und BMI bei Probanden mit Diabetes mellitus Typ 1 | 36 |
| Abbildung 3.8 Beziehung der Plasmakonzentration von Resistin und Leptin bei Probanden mit Diabetes mellitus Typ 1 | 37 |
| Abbildung 3.9 Beziehung der Plasmaleptinkonzentration mit dem BMI bei Probanden mit Diabetes mellitus Typ 2 | 38 |
| Abbildung 3.10 Beziehung der Plasmaresistinkonzentration mit dem BMI bei Probanden mit Diabetes mellitus Typ 2 | 39 |
| Abbildung 3.11 Beziehung von Resistin und BMI bei Probanden mit Diabetes mellitus Typ 2 | 40 |
| Abbildung 3.12 Beziehung der Plasmakonzentration von Resistin und Leptin bei Probanden mit Diabetes mellitus Typ 2 | 41 |
| Abbildung 3.13 Abhängigkeit zwischen Leptin und Blutzuckerspiegel | 42 |
| Abbildung 3.14 Geschlechtsbedingte Unterschiede der Leptinkonzentration | 45 |
| Abbildung 4.1 Fehlfunktionen und Dysregulation von Leptin | 55 |

9 Tabellenverzeichnis

| | |
|---|----|
| Tabelle 1.1 Beeinfluss von Resistin durch verschiedene Hormone | 8 |
| Tabelle 1.2 Einfluss von Leptin auf die Insulinproduktion | 12 |
| Tabelle 1.3 Übersicht über Neurotransmitter und Neuropeptide, die die Nahrungsaufnahme beeinflussen | 17 |
| Tabelle 3.1 Übersicht über die ermittelten Messwerte bei stoffwechselgesunden Probanden | 33 |
| Tabelle 3.2 Übersicht über die ermittelten Messwerte bei Probanden mit Diabetes mellitus Typ 1 | 37 |
| Tabelle 3.3 Übersicht über die ermittelten Messwerte bei Probanden mit Diabetes mellitus Typ 2 | 41 |
| Tabelle 3.4 Darstellung der unterschiedlichen Messergebnisse bei Probanden mit und ohne Insulinsensitizertherapie | 45 |
| Tabelle 3.5 Darstellung der unterschiedlichen Messergebnisse für männliche und weibliche Probanden, die mit Insulinsensitizern behandelt wurden | 46 |
| Tabelle 3.6 Epidemiologische Daten und ermittelte Ergebnisse in den einzelnen Studiengruppen | 46 |

10 Probandeninformation

Gemeinschaftspraxis

PD Dr. Fehmann
Dr. Eidenmüller
Großseelheimerstr. 28
35039 Marburg

Probandeninformation

Studie: Analyse der Plasmakonzentrationen von Resistin und Leptin bei
Diabetes mellitus Typ 1 und Typ 2, sowie bei
Stoffwechselgesunden

Sehr geehrte Probandin, sehr geehrter Proband,

dieses Informationsblatt soll dazu dienen, Sie über die bevorstehende Studie aufzuklären und Ihr Einverständnis für eine Teilnahme zu erhalten.

Bevor Sie sich entscheiden, an dieser Studie teilzunehmen, lesen Sie bitte dieses Informationsblatt sehr sorgfältig. Es beschreibt Einzelheiten der Studie und was von Ihnen bei einer Teilnahme erwartet wird.

Worum geht es in der Studie?

In dieser Studie soll untersucht werden, ob Patienten mit Diabetes mellitus und stoffwechselgesunde Probanden unterschiedliche Konzentration verschiedener Hormone im Blut aufweisen und damit ein möglicher Zusammenhang mit einer Insulinresistenz erklärt werden kann. Dazu ist es notwendig, Ihnen 10 ml Blut zu entnehmen. Dieses Blut wird anschließend zentrifugiert und das überstehende Plasma abpipetiert. Schließlich wird das so gewonnene Blutplasma bis zur Laboranalyse eingefroren.

Was kommt auf Sie zu?

Wie bereits erwähnt, ist es notwendig, Ihnen für diese Studie Blut mittels venöser Punktion zu entnehmen. Da dies unter standardisierten Bedingungen erfolgen muss, ist es wichtig, dass Sie sich zur Blutentnahme morgens um 8 Uhr nüchtern in der Gemeinschaftspraxis Fehmann/Eidenmüller einfinden und an der Anmeldung anmelden. Anschließend wird Ihnen schnellst möglich im Labor das entsprechende Blut abgenommen. Zu Ihrer eigenen Sicherheit sollten Sie sich, bevor Sie die Praxis verlassen, noch einige Minuten nach der Blutentnahme in den Räumen der Praxis aufhalten.

Welche Nebenwirkungen sind möglich?

Die Blutentnahme ist eine Untersuchung der täglichen Praxis und dient der Analyse verschiedenster Blutparameter. Es sind für die venöse Punktion keine Nebenwirkungen bekannt. In Einzelfällen kann es aber zu Infektionen oder vegetativen Reaktionen kommen, die im Zusammenhang mit der Punktion stehen. In einem solchen Fall bitten wir Sie, uns auf diese Reaktionen möglichst frühzeitig hin zu weisen.

Was müssen Sie beachten?

Bitte beachten Sie, dass folgende Gegebenheiten zum Ausschluss von der Studie führen:

- Eine HIV oder Hepatitis C Infektion
- Eine akute Infektionskrankheit
- Patienten, die nicht nüchtern sind, also beispielsweise ein Frühstück zu sich genommen haben

Bitte informieren Sie uns wenn eine dieser Gegebenheiten bei Ihnen vorliegt.

Können Sie aus der Studie wieder ausscheiden?

Die Teilnahme an der Studie ist freiwillig. Sie können jederzeit und ohne Angabe von Gründen Ihre Einwilligung zurückziehen und die Studie abbrechen, ohne dass Ihnen dadurch Nachteile in einer später möglichen medizinischen Versorgung entstehen. Ebenso können Sie auf Anordnung des Untersuchers zu jedem Zeitpunkt aus der Studie genommen werden.

Wie vertraulich werden die Daten behandelt?

Die im Rahmen der Studie aufgezeichneten Daten sowie die Untersuchungsergebnisse werden ohne Ihre persönlichen Daten (Name, Geburtsdatum etc. - d.h. anonymisiert) ausgewertet. Zu Beginn der Studie wird Ihnen eine Studiennummer zugeteilt, um die einzelnen Parameter, die im Zusammenhang mit Ihrer Blutprobe erhoben werden, zuordnen zu können. Eine Schlüsselliste, die eine Zuordnung der Nummer zu Ihrer Person ermöglicht, wird vom Studienleiter (PD Dr. Fehmann) sicher verwahrt und zwei Jahre nach Ablauf der Studie vernichtet. Eine Offenlegung oder Übermittlung der personenbezogenen Daten findet nicht statt.

Staatliche Untersuchungsbehörden dürfen zu Prüfungszwecken Einblick in die persönlichen Daten nehmen. Beim Umgang mit den erhobenen Daten werden die Grundsätze des Datenschutzes gewahrt.

An wen können Sie sich wenden?

Bei Rückfragen können Sie sich gerne an Herrn PD Dr. Fehmann oder Herrn J. Heyn wenden.

Sie können uns unter der Rufnummer 06421- 484858 erreichen.

Wenn Sie an der Studie teilnehmen möchten lesen Sie bitte auch noch die Einverständniserklärung genau durch und unterschreiben Sie dieselbe, nachdem alle Fragen mit dem aufklärenden Arzt besprochen sind.

11 Einwilligungserklärung

Gemeinschaftspraxis

PD Dr. Fehmann
Dr. Eidenmüller
Großseelheimerstr. 28
35039 Marburg

Einwilligungserklärung

Studie: Analyse der Plasmakonzentrationen von Resistin und Leptin bei Diabetes mellitus Typ 1 und Typ 2, sowie bei Stoffwechselgesunden

Ich, _____, geboren am _____

willige in die Teilnahme an der oben genannten Studie ein. Eine Kopie der unterschriebenen Patienteninformation und der Einwilligungserklärung wurde mir ausgehändigt. Ich habe sie gelesen und habe keine weiteren Fragen.

Herr/Dr. _____ hat die Untersuchung mit mir besprochen und mich über mögliche Belastungen / mögliche Nebenwirkungen aufgeklärt.

Mir ist bekannt, dass die Teilnahme an dieser Studie freiwillig ist und ich mich jederzeit ohne Angabe von Gründen und ohne Nachteile in der ärztlichen Versorgung von der Untersuchung zurückziehen kann.

Datenschutzerklärung:

Die im Rahmen dieser Studie aufgezeichneten Daten werden anhand einer Probandennummer anonymisiert und in dieser Form gespeichert und wissenschaftlich ausgewertet. Ich bin damit einverstanden, dass im Rahmen der Untersuchung Daten von mir aufgezeichnet werden. Staatliche Überwachungsbehörden dürfen zu Überprüfungszwecken Einsicht in meine Untersuchungsdaten nehmen.

Ich bin darüber informiert worden, dass die beteiligten Untersucher zur Verschwiegenheit verpflichtet sind.

Name (in Druckschrift) und Unterschrift des Probanden

Ort, Datum

Ich habe die Untersuchung mit dem Probanden in einer verständlichen Sprache erörtert und ihm seine Fragen beantwortet.

Name(in Druckschrift) und Unterschrift des Untersuchers

Ort, Datum

12 Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

| | |
|-------|---|
| ACTH | Adrenocorticotropes Hormon |
| ATP | Adenosintriphosphat |
| cAMP | Cyclisches Adenosinmonophosphat |
| BMI | Body Mass Index |
| Bp | Basenpaare |
| Ca | Calcium |
| CART | cocaine- and amphetamine-regulated transcript |
| CRH | Corticotropin Releasing Hormone |
| Cys | Cystein |
| db | diabetes |
| dl | Deziliter |
| DNA | Desoxyribonukleinsäure |
| EDTA | Ethylene Diamine Tetraacetic Acid |
| EIA | Enzym Immunoassay |
| ELISA | Enzym Linked Immuno Sorbent Assay |
| FATP | Fettsäuretransporterprotein |
| FFA | freie Fettsäuren |
| FIZZ | Found in Inflammatory Zone |
| FSH | Follikelstimulierendes Hormon |
| G-CSF | Granulozyten koloniestimulierenden Faktor |
| GH | Wachstumshormon |
| GLP-1 | Glucogen-like Peptide-1 |
| HbA1C | Glykolisiertes Hämoglobin |
| HCl | Salzsäure |

| | |
|-------|---|
| HIV | Human Immunodeficiency Virus |
| Ig | Immunglobulin |
| IGF-1 | Insulin-like Growth Factor 1 |
| IRS-1 | Interferon Regulatory Factor 1 |
| JAK | Janus Kinase |
| K | Kalium |
| kDa | Kilodalton |
| kg | Kilogramm |
| l | Liter |
| LADA | Latent Autoimmune Diabetes of the Adult |
| LIF | Leukämie inhibierenden Faktor |
| LH | Luteinisierendes Hormon |
| MCH | Melanin concentrating hormone |
| mg | Milligramm |
| mRNA | messenger RNA |
| µg | Mikrogramm |
| µl | Mikroliter |
| µmol | Mikromol |
| ml | Milliliter |
| mmol | Millimol |
| MODY | Maturity Onset Diabetes of the Young |
| MSH | Melanozyten Stimulierendes Hormon |
| N | molar |
| NaOH | Natronlauge |
| ng | Nanogramm |

| | |
|-------------------|--|
| nm | Nanometer |
| nM | Nanomolar |
| NNR | Nebennierenrinde |
| NPY | Neuropeptid Y |
| ob | obese |
| PEPCK | phosphoenolpyruvat Carboxykinase |
| PPAR? | peroxisomen proliferator aktivierter Rezeptor ? |
| RELM | Resistin like molecules |
| rpm | Umdrehungen pro Minute |
| PEP-Carboxykinase | Phosphoenolpyruvate Carboxykinase |
| SA-HRP | Streptovadin-horseradisch peroxidase |
| SCOC3 | Suppressor of Cytokine Signalling-3 |
| STAT | signal transducers and activators of transcription |
| T3 | Triiodthyronin |
| TNF-a | Tumornekrosefaktor-a |
| TSH | Thyreostimulierendes Hormon |
| VK | Variationskoeffizient |
| ZNS | Zentralnervensystem |

13 Lebenslauf

PERSÖNLICHE DATEN:

Name: Jens Michael Heyn

Adresse: Rennweger Ring 14
97070 Würzburg

Telefon: 0931-7845961

e-mail: Jens.Heyn@web.de

Geburtstag: 23. November 1976

Geburtsort: Homberg/Efze

Eltern: Hans-Joachim Heyn, CAD-User und Inge Heyn,
geborene Botte, Hausfrau

Geschwister: Kerstin Heyn, 24 Jahre, Industriekauffrau

AUSBILDUNG:

1983–1987 Mittelpunktschule Heiligenberg, Gensungen

1987–1996 Ursulinenschule, Fritzlar

1996 Abitur

ZIVILDIENTST:

1996–1997 “Hospital zum Heiligen Geist“ als Pflegekraft in der Chirurgie

STUDIUM:

| | |
|-------------|--|
| 1997–2003: | Studium der Humanmedizin an der Philipps-Universität Marburg (Lahn) |
| August 1999 | Ärztliche Vorprüfung an der Philipps-Universität Marburg (Lahn) |
| August 2000 | Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung an der Philipps-Universität Marburg (Lahn) |
| April 2003 | Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung an der Philipps-Universität Marburg (Lahn) |
| 2003-2004 | Studium der Humanmedizin an der Universität Würzburg als Student im Praktischen Jahr im Klinikum der Universität |

KLINISCHE ERFAHRUNG:

| | |
|----------------|--|
| 1996-1997 | Zivildienst als Pflegekraft im „Hospital zum Heiligen Geist“ |
| März 1998 | Praktikum im OP des Kreiskrankenhauses Melsungen |
| 1999-2003 | Nachtdienste als Pflegekraft in der Notaufnahme des Klinikums der Philipps-Universität Marburg |
| März 2000 | Famulatur an der Universität Innsbruck (Österreich) |
| September 2000 | Famulatur an der University of Manchester (England) |
| März 2001 | Praxisfamulatur in Marburg |
| September 2001 | Famulatur am Lehrkrankenhaus der New South Wales University Wollongong (Australien) |
| März 2002 | Famulatur an der University of Ghana in Accra (Afrika) |

14 Verzeichnis der Hochschullehrer

Meine akademischen Lehrer waren:

Im vorklinischen Studienabschnitt die Damen und Herren

Amon, Aumüller, Basler, Baum, Beato, Berndt, Bolm, Cetin, Daut, Eilers, Feuser, Frustorfer, Geus, Grau, Grezschick, Hasilik, Kaluza, Kern, Koolman, Lammel, Lang, Löffler, Lührmann, Meinhardt, Müller, Mutters, Rausch, Richter, Röhm, Rogausch, Seitz, Steininger, Voigt, Wagner, Weihe, Westermann aus Marburg an der Lahn.

Im klinischen Studienabschnitt die Damen und Herren

Alfke, Arnold, Bandmann, Barth, Baum, Becker, Behr, Bertalanffy, Bien, Böhringer, Brilla, Czubayko, Dibbets, Dobbelstein, Eissele, Engelhardt-Cabillic, Fehmann, v. Garrel, Geks, Gemsa, Gerdes, Göke, Görg, Gotthardt, Gotzen, Greger, Grimm, Griss, Gudermann, Hamer, Happle, Hasse, Hebebrandt, Hellinger, Hellwig, Herzum, Hesse, Heufelder, Hoeffken, Hörsch, Höltermann, Hofmann, Hoffmann, Holst, Hufnagel, Joseph, Jungclas, Kälble, Kienapfel, Kleine, Klenk, Klose, König, Krause, Kretschmer, Krieg, Kroh, Kroll, Kuhn, Lemke, Lennartz, Leppek, Lippert, Löffler, Löw, Maser, Maisch, Mennel, Menz, Moll, Moosdorf, Müller, Mutters, Neubauer, Nies, Oertel, Petermann, Petermeyer, Pfab, Pfeiffer, Rager, Remschmidt, Renz, Richter, Riegel, Risse, Rosenow, Rothmund, Schädel-Höpfner, Schäfer, Schnabel, Schneider, Seyberth, Slenczka, Stief, Stiletto, Stinner, Sure, Sturm, Vogelmeier, Wagner, Werner, v. Wichert, Wilke, Wolf, Wulf, Zedler und Zielke aus Marburg an der Lahn.

und die Damen und Herren

Angermann, Dietz, Ertl, Eulert, Gassel, Fein, Franke, Fuchs, Gohlke, Hendrich, Jennet, Kneitz, Meyer, Raab, Rader, Rückle-Lanz, Schindler, Sailer, Scheppach, Scheuerlen, Seufert, Steger, Thiede, Timmermann, Tony, Walther, Wagner, Weckbach, Weißer, Weissinger, Wilms und Ziegler aus Würzburg.

15 Danksagung

Für die Unterstützung bei der vorliegenden Arbeit möchte ich danken:

Herrn Univ.-Professor Dr. med. Fehmann für Anregungen und Förderung bei der Durchführung der vorliegenden Dissertation, sowie für die Überlassung des Themas der Dissertation.

Herrn Univ.-Professor Dr. med. Kann für die freundliche Weiterbetreuung dieser Arbeit, sowie für seine Anregungen.

Herrn Dr. med. Zerbe und Herrn Dr. med. Herden für die Bereitstellung eines Laborarbeitsplatzes in ihrer Marburger Laborarztpraxis.

Herrn Univ.-Professor Dr. med. Lang und seinen Mitarbeitern für seine Anregungen bei der Durchführung der Analyse der Blutproben, sowie für die Bereitstellung eines Laborarbeitsplatzes.

Herrn Dr. med. Eidenmüller für die Bereitschaft, mich die Blutproben während der Sprechstunde sammeln zu lassen, sowie für die Patientenaufklärung.

Frau Böcker, Frau Hack und Frau Ritterbusch für die Unterstützung beim Probensammeln, sowie für die phantastische Motivation.

Frau Anke Siebers (Universität Würzburg) für die statistische Beratung.

Meinen Mitbewohnern und Studienfreunden Guido Pilgramm und Andreas Wentrup für ihr Verständnis und ihre entgegengebrachte Hilfe.

Meinen Eltern für ihre immer wieder aufbauenden und aufheiternden Anrufe und für den Unterschlupf, den sie mir an harten Tagen gaben. Weiterhin für alle Unterstützungen, die mir erst das Studium in Marburg und später in Würzburg ermöglicht haben. Ihnen sei deshalb auch diese Arbeit gewidmet.

Meinen Großeltern für ihre Unterstützung.

Ebenso meiner Schwester Kerstin, sowie meinen Freundinnen und Freunden für ihr Verständnis und ihre Motivation.

Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Humanmedizin der Universität zu Marburg zur Promotion eingereichte Arbeit mit dem Titel:

„Untersuchung

der Plasmakonzentration von Diabetikern und Stoffwechselgesunden

im Hinblick auf diabetogene Hormone

unter besonderer Berücksichtigung von Resistin“

zunächst unter der Leitung von Prof. Dr. Fehmann und später durch die Unterstützung von Prof. Dr. Kann ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keinem in- und ausländischen Fachbereich der Medizin ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende oder eine andere Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Teile der vorliegenden Arbeit wurden in folgendem wissenschaftlichem Journal publiziert:

Fehmann HC, Heyn J „Plasma resistin levels in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus and in healthy controls.“ Hormone and Metabolic Research 34 (2002): 671-673